

Klinische Ernährung 16

Die Rolle des Carnitins im Fettstoffwechsel der Perinatalperiode des Menschen

E. Schmidt-Sommerfeld

– Habilitationsarbeit –



W. Zuckschwerdt Verlag München · Bern · Wien



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554812_0013

Die Rolle des Carnitins im Fettstoffwechsel
der Perinatalperiode des Menschen

Meinen Eltern
und Duna
in Dankbarkeit gewidmet

Klinische Ernährung 16

Reihenherausgeber

F. W. Ahnefeld, Ulm; W. Hartig, Leipzig;
E. Holm, Mannheim; G. Kleinberger, Wien

Wissenschaftlicher Beirat

M. Adolph (Augsburg), H. Böhles (Erlangen), U. Bürger (Gießen),
G. Dietze (München), W. Druml (Wien), J. Eckart (Augsburg),
P. Fürst (Stuttgart), A. Grünert (Ulm), M. Hackl (Innsbruck), K. Ibe (Berlin),
K. Irsigler (Wien), U. Keller (Basel), D. D. Keller (Pforzheim),
R. Kluthe (Freiburg), H. Lochs (Wien), D. Löhlein (Hannover),
J. M. Müller (Köln), G. Ollenschläger (Köln), H. Paust (Berlin),
H. Reinauer (Düsseldorf), E. Roth (Wien), D. Sailer (Erlangen),
P. Schauder (Göttingen), J. E. Schmitz (Ulm), H. J. Steinhardt (Tübingen),
J. P. Striebel (Mannheim), H. Troidl (Köln), K. Widhalm (Wien)



W. Zuckschwerdt Verlag München · Bern · Wien

Die Rolle des Carnitins im Fettstoffwechsel der Perinatalperiode des Menschen

E. Schmidt-Sommerfeld

32 Abbildungen und 17 Tabellen



W. Zuckschwerdt Verlag München · Bern · Wien

CIP-Kurztitelaufnahme der Deutschen Bibliothek

Schmidt-Sommerfeld, Eberhard:

Die Rolle des Carnitins im Fettstoffwechsel der Perinatalperiode des Menschen /

E. Schmidt-Sommerfeld. – München ; Bern ; Wien : Zuckschwerdt, 1985.

(Klinische Ernährung ; 16)

ISBN 3-88603-130-6

NE: GT

Geschützte Warennamen (Warenzeichen) werden nicht immer kenntlich gemacht. Aus dem Fehlen eines solchen Hinweises kann nicht geschlossen werden, daß es sich um einen freien Warennamen handelt.

Alle Rechte, insbesondere das Recht der Vervielfältigung und Verbreitung sowie der Übersetzung, vorbehalten. Kein Teil des Werkes darf in irgendeiner Form (durch Fotokopie, Mikrofilm oder ein anderes Verfahren) ohne schriftliche Genehmigung des Verlages reproduziert werden.

© Copyright 1985 by W. Zuckschwerdt Verlag GmbH, Kronwinkler Straße 24, D-8000 München 60,
Printed in Germany
by Stelzl-Druck München.
ISSN 0174-2469
ISBN 3-88603-130-6

Inhalt

1. Einleitung	1
1.1 Historische Vorbemerkungen	1
1.2 Die Rolle des Carnitins im Stoffwechsel	2
1.2.1 Das System der Carnitin-Azyl-Transferasen	2
1.2.2 Die Funktion des Carnitins bei der Ketogenese	4
1.3 Biosynthese, Transport und Elimination von Carnitin	6
1.3.1 Biosynthese	6
1.3.2 Transport in die Zelle	7
1.3.3 Ausscheidung	8
1.4 Krankheiten mit Carnitinmangel	8
1.4.1 Angeborener Carnitinmangel	8
1.4.2 Carnitinmangel durch Verlust	9
1.4.3 Diätetisch bedingter Carnitinmangel	9
1.5 Carnitin und der Fettstoffwechsel in der Perinatalperiode	9
1.5.1 Stoffwechseländerungen bei der Geburt	9
1.5.2 Subkutanes weißes Fettgewebe des menschlichen Neugeborenen	10
1.5.3 Braunes Fettgewebe der Nager	12
2. Fragestellungen und Ziel der Untersuchungen	13
2.1 Die Versorgung des Feten mit Carnitin	13
2.2 Die Rolle des Carnitins im Fettgewebe des Neugeborenen	13
2.3 Carnitinmangel bei parenteral ernährten Frühgeborenen	13
3. Methoden der Carnitinbestimmung	15
3.1 Spektrophotometrische Methode	15
3.2 Radiochemische Methode	15
3.3 Unsere Modifikation der radiochemischen Methode	16
3.4 Bestimmung der Carnitinester	16

4. Statistische Auswertung	18
5. Carnitin im Stoffwechsel der Perinatalperiode	
- Eigene Untersuchungen	19
5.1 Carnitin-Blutspiegel während Schwangerschaft und Entbindung	19
5.1.1 Patienten und Methoden	19
5.1.2 Ergebnisse und Kommentar	19
5.2 Carnitinkonzentration im Fruchtwasser.	23
5.2.1 Patienten und Methoden	23
5.2.2 Ergebnisse und Kommentar	24
5.3 Transfer und Stoffwechsel von Carnitin in der in vitro perfundierten menschlichen Plazenta	26
5.3.1 Material und Methoden	26
5.3.2 Ergebnisse und Kommentar	32
5.4 Carnitinkonzentration im subkutanen Fettgewebe des Neugeborenen	37
5.4.1 Material und Methoden.	37
5.4.2 Ergebnisse und Kommentar	38
5.5 Mitochondriale Carnitin-Palmityl-Transferase (CPT) im subkutanen Fettgewebe von Neugeborenen und Frühgeborenen	40
5.5.1 Material und Methoden.	40
5.5.2 Ergebnisse und Kommentar	41
5.6 Die Wirkung des Carnitins auf Oxidation und Esterifizierung von ¹⁴ C-Palmitat in isolierten Fettzellen des Neugeborenen	42
5.6.1 Material und Methoden.	42
5.6.2 Ergebnisse und Kommentar	43
5.7 Carnitinkonzentration in der Milch	45
5.7.1 Material und Methoden.	45
5.7.2 Ergebnisse und Kommentar	45
5.8 Carnitin-Blutspiegel und -Urinausscheidung bei parenteral und enteral ernährten Frühgeborenen.	47
5.8.1 Patienten und Methoden	47
5.8.2 Ergebnisse und Kommentar	48
5.9 Carnitin-Gewebekonzentration von Neu- und Frühgeborenen	52
5.9.1 Patienten und Methoden	52
5.9.2 Ergebnisse und Kommentar	53

5.10 Zusammenhänge zwischen Carnitinzufuhr, Carnitin-Blutspiegeln und der Fettsäureoxidation bei parenteral ernährten Frühgeborenen	55
5.10.1 Patienten und Methoden	55
5.10.2 Ergebnisse und Kommentar	56
5.11 Die Wirkung einer Carnitinsubstitution auf Carnitin-Blutspiegel und Fettsäureoxidation bei parenteral ernährten Frühgeborenen	59
5.11.1 Patienten und Methoden	59
5.11.2 Ergebnisse und Kommentar	60
6. Allgemeine Diskussion	67
6.1 Die Rolle der Plazenta bei der Versorgung des Feten mit Carnitin und Carnitinstern	67
6.2 Die Rolle des Carnitins im Fettgewebsstoffwechsel des Neugeborenen	69
6.3 Die Folgen einer fehlenden Carnitinzufuhr bei parenteral ernährten Frühgeborenen	70
7. Ausblick	72
8. Zusammenfassung.	74
9. Literatur	76

Verzeichnis häufig verwendeter Abkürzungen

CPT	Carnitin-Palmityl-Transferase
CAT	Carnitin-Azetyl-Transferase
CoA	Coenzym A
AC/FC-Ratio	Verhältnis von Azylcarnitin zu freiem Carnitin
DTNB	5,5-Dithio-2-nitrobenzoesäure
L/S-Ratio	Lezithin-Sphingomyelin-Quotient
MV	mütterlich-venös
MA	mütterlich-arteriell
FV	fetal-venös
cpm	counts per minute
SSW	Schwangerschaftswoche(n)
FFS/ β OHB	Quotient freie Fettsäuren zu β -Hydroxybutyrat
i.v.	intravenös
KG	Körpergewicht

1. Einleitung

1.1 Historische Vorbemerkungen

Justus von Liebig, der erkannt hatte, daß der Lebensprozeß im wesentlichen durch chemische Umsetzungen bedingt ist, schuf 1842 in Gießen mit seinem Werk »Die organische Chemie in ihrer Anwendung auf Physiologie und Pathologie« eine fundierte naturwissenschaftliche Grundlage für die Medizin des 19. Jahrhunderts. Er schrieb an *Wöhler*: »... ist es denn durchaus unmöglich, daß ein Mensch nicht Neigung und Lust gewinnen sollte, eine krankhafte Erscheinung im Körper so zu verfolgen, daß er zuletzt zur Erkenntnis des Orts und der Natur des Übels und damit der Mittel gelange, die nötig sind, um dasselbe zu beheben?« (1). Fünf Jahre später führte *Liebig* eine exakte wissenschaftliche Untersuchung »Über die Bestandteile der Flüssigkeiten des Fleisches« durch (2). Er entdeckte und analysierte eine Reihe von wasserlöslichen organischen Bestandteilen des Fleischsaftes, von denen er vor allem Kreatin, Kreatinin und Inosinsäure nannte. Der dann als Anregungs- und Stärkungsmittel in den Arzneischatz eingeführte »Liebig's Fleischextrakt« erlangte nicht nur eine erhebliche wirtschaftliche Bedeutung, sondern diente in den folgenden Jahrzehnten den Chemikern zur Isolierung und Analyse einer Fülle von stickstoffhaltigen organischen Verbindungen.

Einer dieser Bestandteile unterschied sich von den übrigen bisher bekannten »Extraktivstoffen des Muskelgewebes« dadurch, daß »auf 1 Atom Stickstoff 3 Atome Sauerstoff« kamen (3). Diese Substanz wurde 1905 von den Russen *Gulewitsch* und *Krimberg* (3) in *Liebig's* Fleischextrakt entdeckt und erhielt – in An-

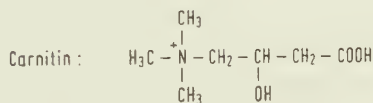


Abbildung 1. Strukturformel von Carnitin.

spielung auf den prinzipiellen Ort ihres Vorkommens – den Namen Carnitin. Die Autoren beschrieben schon damals die Summenformel $C_7H_{15}NO_3$ korrekt. 1927 wurde dann die Struktur des Carnitins (Abbildung 1) durch chemische Synthese aufgedeckt (4). Carnitin ist ein quaternäres Amin mit dem chemischen Namen β -Hydroxy- γ -trimethylaminobuttersäure. Erst im Jahre 1952 gelang es der Arbeitsgruppe um *Fraenkel* (5), Carnitin als ein für das Wachstum des Mehlwurms *Tenebrio molitor* notwendiges Vitamin (genannt Vitamin B_T) zu identifizieren. Durch die Arbeiten von *Fritz* (6, 7) und *Bremer* (8) wurde dann ab 1959 die fundamentale Funktion des Carnitins bei der Oxidation von Fettsäuren in den Mitochondrien erhellt. Mit der Verbesserung der analytischen Methodik entstand inzwischen ein umfangreiches Grundlagenwissen über diese Substanz.

1.2 Die Rolle des Carnitins im Stoffwechsel

1.2.1 Das System der Carnitin-Azyl-Transferasen

Die prinzipielle Funktion des Carnitins ist die des Transportes von aktivierten Fettsäuren über die innere mitochondriale Membran, welche für Coenzym-A-Verbindungen impermeabel ist. *Fritz* (9) postulierte, daß an diesem Transport zwei verschiedene Carnitin-Azyl-Transferasen (Carnitin-Palmityl-Transferasen) beteiligt sind. Diese Theorie wurde in der Folgezeit durch zahlreiche Messungen bewiesen (10–13). *Pande* (14) fand ein weiteres an diesem Transport beteiligtes Enzym: Die Carnitin-Azylcarnitin-Translokase.

Die Funktion der drei genannten mitochondrialen Enzyme ist in Abbildung 2 dargestellt.

Carnitin-Azyl-Transferase C (auch: CPT I) ist locker an die Zytosolseite der inneren mitochondrialen Membran gebunden und katalysiert die Übertragung langkettiger Fettsäuren von Coenzym A auf Carnitin. Die Carnitin-Azylcarnitin-Translokase ermöglicht den Transport von langkettigen Carnitinstern (Azylcarnitin) in die mitochondriale Matrix. Gleichzeitig werden im Austausch äquimolare Mengen von freiem Carnitin aus den Mitochondrien in das Zytosol befördert. An der Matrixseite wird die Fettsäure durch eine fest an die Membran gebundene Carnitin-Azylcarnitin-Transferase M (auch: CPT II) von Carnitin wieder auf Coenzym A übertragen. Damit steht Azyl-CoA für die β -Oxidation zur Verfügung.

Es wurde auch gezeigt, daß, wenn Mitochondrien unter Auslastung der oxidativen Kapazität Fettsäuren oxidieren, die CPT II reversibel ist. Unter dieser Bedingung können Azylgruppen durch intramitochondriale Azylcarnitinbildung aus dem mitochondrialen Kompartiment in das Zytosol befördert werden. Gleichzeitig fällt die intramitochondriale Konzentration von Azyl-CoA ab (15).

Neben den langkettigen Fettsäuren werden auch kurz- und mittelkettige Fettsäuren mit Hilfe von Carnitin über die mitochondriale Membran transportiert. Die

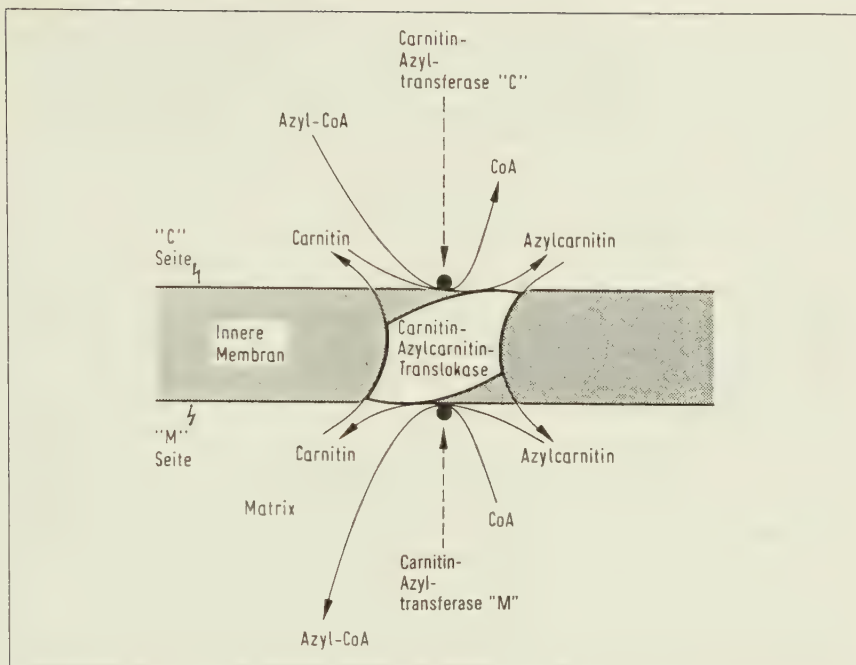


Abbildung 2. Darstellung des Carnitin-abhängigen Transportes von Azylgruppen über die innere mitochondriale Membran (Erläuterung s. Text); aus Pande (14).

Existenz einer Carnitin-Azetyl-Transferase (CAT) in Mitochondrien ist schon seit langem bekannt (16). Ihre wichtigste Funktion scheint in dem Transport überschüssiger Azetylgruppen aus den Mitochondrien zu liegen. Das innermitochondriale Verhältnis von Coenzym A zu Azetyl-CoA kann so gesteuert und damit indirekt die Fettsäureoxidation reguliert werden (17–19). Die CAT reagiert auch mit anderen kurzkettigen Fettsäuren, wie z. B. Propionsäure. Kürzlich wurde eine zusätzliche Transferase für mittelkettige Fettsäuren, die Carnitin-Oktanoyl-Transferase (COT) gefunden (20). Markwell et al. (21) konnten zeigen, daß nicht nur Mitochondrien, sondern auch Mikrosomen, das endoplasmatische Retikulum und Peroxisomen der Leber eine Carnitin-Azyl-Transferase-Aktivität für kurzkettige (CAT) und mittelkettige (COT) Fettsäuren aufweisen. Die CPT scheint hingegen ausschließlich in Mitochondrien vorzukommen. Der Nachweis einer Reihe von kurzkettigen, verzweigtkettigen und mittelkettigen Carnitineestern durch die Arbeitsgruppe von Bieber (22) weist auf die mögliche Funktion dieser Transferasen hin: mittelkettige Fettsäuren, die z. B. im System der β -Oxidation der Peroxisomen (23) durch Kettenverkürzung langkettiger Fettsäuren entstehen, könnten als Azylcarnitine die Peroxisomen verlassen und in Mitochondrien weiteroxidiert werden.

Das Vorkommen von Propionyl-, Isobutyryl- und Isovalerylcarnitin weist auf eine Rolle des Carnitins beim oxidativen Abbau der verzweigtkettigen Aminosäuren hin (24, 25). Es ist aber wahrscheinlich, daß Carnitin für diesen Abbau nicht obligatorisch ist, sondern lediglich durch Regeneration von intramitochondrialem Coenzym A den Abbau verzweigtkettiger Aminosäuren erleichtert (26).

1.2.2 Die Funktion des Carnitins bei der Ketogenese

Eine Reihe von tierexperimentellen Daten weist darauf hin, daß dem Carnitin-Azyl-Transferase-System eine Schlüsselrolle bei der Ketogenese in der Leber zukommt: *McGarry* et al. (27) beobachteten, daß durch eine Blockade der mitochondrialen CPT mit Dekanoylcarnitin die Ketonkörperproduktion in der Rattenleber gehemmt wird. In-vitro-Untersuchungen mit isolierten Mitochondrien der Leber von fastenden oder diabetischen Ratten zeigten, daß sich die gesteigerte Aufnahme von Palmitat durch diese Mitochondrien mit Blockern der CPT I hemmen läßt (28). Bei Patienten mit angeborenem CPT-Mangel findet sich im Fastenzustand eine verminderte Ketonkörperproduktion und eine Anhäufung von Lipiden im Zytosol der Leberzelle (29). Diese Befunde sprechen für eine regulatorische Funktion der CPT bei der Ketonkörperbildung.

McGarry et al. (30) haben aufgrund ihrer tierexperimentellen Untersuchungen beim Fasten, nach Gabe von Antiinsulinserum und nach Gabe von Glukagon postuliert, daß die CPT einer bihormonalen Kontrolle unterliegt. Das Verhältnis von Glukagon zu Insulin scheint das ketogene Profil der Leber zu bestimmen (31). Dabei spielen die Konzentrationen von Glykogen und Malonyl-CoA in der Leber eine entscheidende Rolle. Malonyl-CoA, das Produkt der Azetyl-CoA-Carboxylase, ist Baustein der Fettsäuresynthese und ein potenter Hemmer der CPT I (32, 33). Der Übergang vom gesättigten zum fastenden Zustand geht mit einem Anstieg des Glukagons und einem Abfall der Malonyl-CoA-Konzentration in der Leber einher. Dadurch wird die Aktivität der CPT I enthemmt und die Ketogenese stimuliert. Die Rate der Fettsäuresynthese und die Malonyl-CoA-Konzentration in der Leber korrelieren negativ mit der Rate der Fettsäureoxidation und der Konzentration von langkettigen Carnitinstern (34). *Saggerson* et al. (35) konnten unlängst zeigen, daß bei der Ratte der Übergang vom fetalen zum neonatalen Stoffwechsel nicht nur von einem Anstieg der Aktivität der CPT I in Lebermitochondrien, sondern auch von einer starken Abnahme der Empfindlichkeit der CPT I gegenüber einer Hemmung durch Malonyl-CoA begleitet ist. Diese Ergebnisse führten zu der Hypothese, daß Malonyl-CoA und die CPT I bei der Regulation der Fettsäuresynthese und β -Oxidation eine zentrale Rolle spielen. Gegenwärtig wird diese Hypothese in der biochemischen Literatur diskutiert.

McGarry et al. (36) beschrieben als erste einen Anstieg des Gesamtcarnitins in der Rattenleber bei gesteigerter Ketogenese. Dieser Befund wurde von einigen Autoren bestätigt (37, 38), von anderen nicht bestätigt (39, 40). Auch beim Schaf

steigt der Gehalt der Leber an Carnitin im Zustand der Ketose an (41). Die Ursache für die erhöhte Carnitinkonzentration in der Leber von ketotischen Tieren ist unbekannt. Vermutlich spiegelt sie einen gesteigerten Bedarf der Leber an Carnitin bei der Ketogenese wider. Die Anwesenheit von Carnitin in der Leber scheint per se nicht die Ketogenese zu regulieren, jedoch Voraussetzung für die intakte mitochondriale Fettsäureoxidation zu sein. Bei einigen Patienten mit angeborenem Carnitinmangel ist die ketogene Kapazität der Leber herabgesetzt (42). Mehrere Autoren haben die Wirkung von Carnitin auf die Ketonkörperbildung in vitro untersucht. So fanden *Triscari et al.* (43) eine Steigerung der Glukagon-stimulierten Ketonkörperproduktion von Rattenhepatozyten nach Zugabe von Carnitin. *Yeh et al.* (44) fanden eine Stimulierbarkeit der Ketonkörperproduktion von Hepatozyten durch niedrige Carnitinkonzentrationen im Inkubationsmedium, jedoch eine Hemmung der Ketonkörperbildung in Anwesenheit unphysiologisch hoher Carnitinkonzentrationen. Diese Befunde lassen sich wie folgt interpretieren: Bei der Isolierung von Leberzellen kommt es zum Verlust von Carnitin in das Medium, so daß ein intrazellulärer Carnitinmangel entsteht. Schon geringe Carnitinkonzentrationen im Medium reichen aus, um physiologische intrazelluläre Carnitinkonzentrationen herzustellen und damit die ketogene Kapazität der Zelle zu verbessern. Unphysiologisch hohe intrazelluläre Carnitinkonzentrationen haben dagegen einen antiketogenen Effekt, der möglicherweise auf einer Blockierung der mitochondrialen Carnitin-Azylcarnitin-Translokase beruht.

Der Grad der Ketogenese läßt sich an Veränderungen der Carnitinfraktionen im Plasma ablesen. Sowohl bei der Ratte als auch beim Menschen kommt es beim Fasten (45, 46, 47), bei der diabetischen Ketose bzw. Ketoazidose (48) und nach Gabe von mittelkettigen Triglyzeriden (46) zu einem Anstieg der kurzkettigen Carnitinester im Plasma. Diese Ester bestehen zum größten Teil aus Azetylcarnitin (22) und korrelieren positiv mit der Konzentration von β -Hydroxybutyrat im Plasma (45, 47, 48). Der gleichzeitige Anstieg von Azetylcarnitin und Ketokörpern ist darauf zurückzuführen, daß bei einer exzessiven Anhäufung von Azetyl-CoA in der ketogenen Leber neben Ketonkörpern vermehrt Azetylcarnitin gebildet wird und in die Blutbahn gelangt. Im allgemeinen kommt es gleichzeitig zu einem – unter Umständen verzögerten – Abfall von freiem Carnitin in Plasma (39, 45, 48), immer aber zu einer Erhöhung des Verhältnisses von Azylcarnitin zu freiem Carnitin (AC/FC-Ratio). Die AC/FC-Ratio im Plasma ist ein zuverlässiger Parameter für akute Änderungen im Fettstoffwechsel. Sie korreliert positiv mit der Rate der Fettsäureoxidation.

Auch im Urin kommt es bei erhöhtem Fettkatabolismus zu einem Anstieg der AC/FC-Ratio. Zugleich fällt die Ausscheidung von Gesamtcarnitin ab (39, 45, 47). Der Organismus ist also in der Lage, im Zustand der Ketose an Carnitin gebundene Azylgruppen auszuschcheiden und dabei freies Carnitin zurückzuhalten. *Genuth et al.* (48) und *Hoppel et al.* (45) konnten weiterhin zeigen, daß beim erwachsenen Menschen nach Fasten und in der diabetischen Ketoazidose auch die

langkettigen Carnitinester im Plasma ansteigen. Diese werden bei einem Überschuß von langkettigem Azyl-CoA in der mitochondrialen Matrix gebildet, aus den Mitochondrien ausgeschleust und an die Blutbahn abgegeben. Das Verhältnis von langkettigem Carnitin zu freiem Carnitin im Plasma ist ein Maß für das Verhältnis von langkettigem Azyl-CoA zu freiem CoA im Gewebe und hängt vom Ernährungszustand ab (49, 50).

Zusammenfassend läßt sich festhalten, daß das System der Carnitin-Azyl-Transferasen eine Schlüsselrolle beim Fettsäureabbau spielt. Carnitin selbst muß in ausreichender Konzentration vorhanden sein, damit dieses System optimal funktioniert. Die Konzentrationen von Carnitin und Carnitinestem im Plasma geben Aufschluß über die Rate der Fettsäureoxidation und Ketogenese in der Leber. Im Zustand der Ketose vermag die Niere Carnitin für den Organismus zu konservieren.

1.3 Biosynthese, Transport und Elimination von Carnitin

1.3.1 Biosynthese

Säugetiere erhalten Carnitin aus der Nahrung. Generell sind tierische Produkte reich, pflanzliche Produkte dagegen arm an Carnitin. Da Carnitin vom Säugetierorganismus synthetisiert werden kann, gilt es nicht als Vitamin. Schon 1929 fand *Linneweh* (51), daß die intravenöse Gabe von γ -Butyrobetain an Hunde zu einer Ausscheidung von Carnitin im Urin führt. Ähnliche Untersuchungen wurden später von *Lindstedt* et al. (52) mit radioaktiv markiertem γ -Butyrobetain durchgeführt. Ihre weiteren Arbeiten führten dann zur Isolierung der γ -Butyrobetain-Hydroxylase, dem letzten Enzym der Carnitinbiosynthesereihe. *Wolf* et al. (53) fanden, daß die Methylgruppen des Carnitins von der essentiellen Aminosäure Methionin geliefert werden. Kohlenstoffgerüst und Stickstoff des Carnitins stammen von der essentiellen Aminosäure Lysin (54). Trimethyllysin ist Intermediärprodukt der Carnitinbiosynthese. Der komplette Syntheseweg ist in Abbildung 3 zusammengefaßt.

Trimethyllysin entsteht nach neueren Arbeiten beim Säugetier nicht aus freiem, sondern aus proteingebundenem Lysin und wird durch proteolytische Spaltung freigesetzt (55). Enzyme, die Trimethyllysin in γ -Butyrobetain umwandeln, wurden bei der Ratte und beim Menschen in fast allen Geweben gefunden (56). Dagegen wurde die γ -Butyrobetain-Hydroxylase bei der Ratte praktisch nur in der Leber, beim Menschen nur in Leber und Niere nachgewiesen (57, 58). Beim Menschen ist die Aktivität dieses Enzyms in der Niere höher als in der Leber. *Carter* et al. (59) haben bei der Ratte, *Rebouche* et al. (60) beim Menschen mit Hilfe radioaktiv markierter Vorstufen die Interaktion der Organe bei der Carnitinbiosynthese untersucht: Intravenös appliziertes ϵ -N-Trimethyllysin wird überwiegend von der Niere aus dem Kreislauf aufgenommen und an Ort und Stelle in

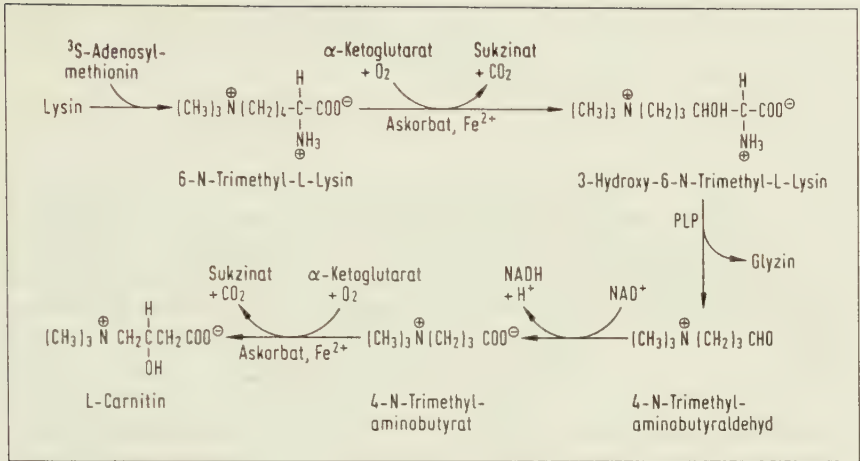


Abbildung 3. Weg der Carnitinbiosynthese; aus Henderson et al. (187).

γ -Butyrobetain umgewandelt. Bei der Ratte gelangt γ -Butyrobetain dann über den Kreislauf in die Leber und wird dort in Carnitin umgewandelt. Dieses wird dann wiederum über den Kreislauf auf andere Organe verteilt. Beim Menschen wird injiziertes ϵ -N-Trimethyllysin in der Niere vollständig in Carnitin umgewandelt.

Über die Regulation der Carnitinbiosynthese ist noch wenig bekannt. Die Rate der Freisetzung von Trimethyllysin aus Protein ist vom Proteinumsatz abhängig und könnte für die Carnitinbiosynthese bestimmend sein. Über eine hormonelle Regulation der Carnitinsynthese wurde viel spekuliert, da mehrere Hormone wie Steroide, Hypophysenhormone, Insulin, Glukagon und L-Thyroxin die Blut- und Gewebespiegel von Carnitin verändern können. Lediglich für L-Thyroxin konnte eine direkte Wirkung auf die Aktivität der γ -Butyrobetain-Hydroxylase nachgewiesen werden (61).

1.3.2 Transport in die Zelle

In den meisten Geweben ist die Konzentration von Carnitin höher als im Plasma. Daraus folgt, daß Carnitin gegen einen Konzentrationsgradienten in die Zelle gelangen muß. Im Skelettmuskel (62, 63) und im Herzen (64) wurde ein an die sarkoplasmatische Membran gebundenes Carrier-System des Carnitintransportes nachgewiesen, das Sättigungseigenschaften besitzt, eine Stereospezifität für L-Carnitin aufweist, energieabhängig ist und durch die strukturanaloge Substanz γ -Butyrobetain kompetitiv gehemmt wird. Cantrell und Borum (65) konnten au-

Berdem unlängst ein spezifisches Carnitin bindendes Protein im Herzen nachweisen und charakterisieren. Auch in isolierten Leberzellen der Ratte wurde ein Transport-Carrier für Carnitin gefunden (66).

1.3.3 Ausscheidung

Die Elimination von Carnitin aus dem Körper erfolgt hauptsächlich über die renale Ausscheidung. Tierexperimentelle Untersuchungen haben gezeigt, daß injiziertes radioaktiv markiertes Carnitin unter normalen Bedingungen fast vollständig und intakt in Geweben und im Urin wiedergefunden wird (67, 68). Zwar wiesen *Khairallah* und *Wolf* (69) in verschiedenen Organen der Ratte eine Carnitin-Dekarboxylase nach, die Carnitin in β -Methylcholin umwandelt, jedoch scheint dieses Enzym nur in Stressituationen (68) und bei cholinarmer Diät (70) aktiv zu sein. Die Arbeitsgruppe von *Strack* (71) in Leipzig fand nach Gabe großer Carnitinnengen an Ratten und Mäuse γ -Butyrobetain und Azetylcarnitin als Hauptmetaboliten im Urin, nicht jedoch β -Methylcholin. Sie schlossen daraus, daß unter bestimmten Bedingungen γ -Butyrobetain nicht nur eine Vorstufe, sondern auch ein Abbauprodukt von Carnitin ist.

1.4 Krankheiten mit Carnitinmangel

1.4.1 Angeborener Carnitinmangel

Engel und *Angelini* (72) haben im Jahre 1973 den ersten Fall einer Carnitinmangel-Myopathie beschrieben, bei dem eine abnorme Lipidspeicherung in den Typ-I-Muskelfasern vorlag. Im gleichen Jahr publizierten *di Mauro* et al. (73) einen Patienten mit rezidivierender Myoglobinurie, bei dem ein Carnitin-Palmityl-Transferase-Mangel mit normalem Carnitinspiegel im Muskel gefunden wurde. Über beide Krankheitsbilder sind inzwischen eine Reihe von Veröffentlichungen erschienen (74–76). 1975 wurden die ersten Fälle von systemischem Carnitinmangel bekannt (77). Es handelt sich um eine in Schüben verlaufende akute Stoffwechselentgleisung mit Enzephalopathie, Hepatopathie und Hypoglykämie, bei der niedrige Carnitinkonzentrationen in Leber, Muskel und Plasma gemessen werden (78–80). Die Pathogenese des angeborenen Carnitinmangels ist noch nicht geklärt. Eine defekte Carnitinbiosynthese, ein defekter Carnitintransport in die Zelle und ein renaler Carnitinverlust werden diskutiert (77, 81). Keiner dieser möglichen Mechanismen erklärt jedoch für sich allein das recht heterogene Krankheitsbild. Von besonderem Interesse ist, daß in einigen Fällen von angeborenem, systemischem Carnitinmangel eine defekte Ketogenese gefunden wurde (42). Andere Fälle gehen jedoch trotz extrem niedriger Carnitinkonzentration in der Leber mit einer normalen Ketonkörperbildung einher (82). Dies könnte auf

eine Carnitin-unabhängige extramitochondriale Fettsäureoxidation zurückzuführen sein.

1.4.2 Carnitinmangel durch Verlust

Chronisch hämodialysierte Nierenpatienten verlieren erhebliche Mengen von Carnitin in das Dialysat (83, 84). Während der Dialyse sinken die Carnitin-Blutspiegel ab, steigen aber nach der Dialyse wieder auf die Ausgangswerte an (85, 86). Böhmer et al. (83) fanden bei diesen Patienten auch erniedrigte Carnitinspiegel im Muskel, was aber von Mingardi et al. (87) nicht bestätigt wurde. Wir fanden normale Gesamtcarnitinkonzentrationen im Fettgewebe dieser Patienten (88). Es ist nicht sicher, ob chronisch hämodialysierte Patienten in einen Carnitinmangel mit Störungen des Fettkatabolismus geraten. Einige Autoren haben die bei diesen Patienten häufig beobachtete Hypertriglyzeridämie mit einem Carnitinmangel in Verbindung gebracht (89, 90).

1.4.3 Diätetisch bedingter Carnitinmangel

Bei einer Reihe von Krankheiten wie z. B. bei Unterernährung (91), bei Darmerkrankungen wie Morbus Crohn oder Malabsorptionssyndrom (92), nach Darmchirurgie (93), bei der Schistosomiasis (94) und bei kachektischen Patienten mit Leberzirrhose (95) wurden erniedrigte Carnitin-Plasmaspiegel gefunden. Als Ursache wird eine diätetisch bedingte unzureichende Zufuhr von Aminosäuren und Carnitin, bei der Leberzirrhose auch eine gestörte Carnitinsynthese diskutiert. Lediglich bei Patienten mit Leberzirrhose wurden auch erniedrigte Carnitin-Gewebekonzentrationen gemessen (95). Die Auswirkung erniedrigter Carnitinspiegel auf den Fettstoffwechsel wurde bei den genannten Krankheiten nicht untersucht.

Über Carnitinmangel bei parenteraler Ernährung liegen bisher nur wenige Untersuchungen vor. Erwachsene Patienten mit Carnitin-freier parenteraler Ernährung können – im Gegensatz zu Frühgeborenen (siehe 5.8) – offenbar über längere Zeit normale Carnitin-Blutspiegel aufrecht erhalten (96). Erst nach etwa 20 Tagen kommt es zu einem allmählichen Abfall der Blutkonzentrationen.

1.5 Carnitin und der Fettstoffwechsel in der Perinatalperiode

1.5.1 Stoffwechseländerungen bei der Geburt

Der Übergang vom intrauterinen zum extrauterinen Leben ist durch eine Fülle von metabolischen Adaptationen gekennzeichnet (für Übersicht siehe (97)). Die

transplazentare Versorgung mit Aminosäuren, Glukose und – in geringerem Maße – auch mit Fettsäuren ist Voraussetzung für das Wachstum des Feten und die Speicherung von Glykogen und Fett. Während dieser Zeit ist die Rate der Fettsäureoxidation sehr niedrig (98). Die abrupte Unterbrechung der Glukosezufuhr, der Anstieg der Katecholamine und der Anstieg des Verhältnisses von Glukagon zu Insulin unmittelbar nach der Geburt führen zu einem raschen Abbau des Glykogens und zur Lipolyse im Fettgewebe (99). Es kommt zum Blutzuckerabfall und zum Anstieg der freien Fettsäuren und des Glycerins im Blut (100, 101). Der Abfall des respiratorischen Quotienten ist Ausdruck vermehrter Energiegewinnung aus Fett. Ketonkörper werden zu einer bedeutenden Energiequelle, insbesondere für das Gehirn (102). Die Aktivität der am Fettsäureabbau beteiligten Enzyme nimmt stark zu (103). Ort der nach der Geburt einsetzenden Fettsäureoxidation sind vor allem Leber und Fettgewebe.

1.5.2 Subkutanes weißes Fettgewebe des menschlichen Neugeborenen

Aufgrund der leichten Zugänglichkeit konnten die metabolischen Vorgänge nach der Geburt im subkutanen weißen Fettgewebe des menschlichen Neugeborenen eingehend untersucht werden (für Übersicht siehe (104)). Es kommt zu einer Stimulation der Lipolyse, vor allem durch Aktivierung der Katecholaminrezeptoren bei der Geburt (105). Über einen Anstieg von zyklischem AMP wird unter Verbrauch von ATP eine Kette von Enzymen aktiviert, die zur Spaltung von Triglyzeriden führt (106–108). Glykogen, Glukose oder glykolytische Intermediärprodukte können als Quelle für NADH und als Substrate für die oxidative Phosphorylierung dienen und somit ATP für den Prozeß der Lipolyse liefern (109, 110). Die Kapazität des Fettgewebes zur Fettsäureoxidation nimmt nach der Geburt zu. Dies zeigt sich u. a. am Anstieg der β -Hydroxyazyl-CoA-Dehydrogenase isolierter Mitochondrien (103).

Morphologisch finden sich im subkutanen Fettgewebe des Neugeborenen sowohl große univakuoläre, mitochondrienarme als auch kleine polyvakuoläre, mitochondrienreiche, Glykogen-haltige Zellen (Abbildungen 4 und 5).

Ersterer Zelltyp wird im Fettgewebe des Erwachsenen angetroffen, während letztere Zellen eine gewisse strukturelle Ähnlichkeit mit denen des braunen Fettgewebes der Nagetiere aufweisen (111).

Novak et al. (112) haben den Sauerstoffverbrauch der Mitochondrien beider Fettzelltypen gemessen. Der wichtigste Unterschied zwischen den beiden Zelltypen bestand in der metabolischen Antwort auf Carnitin. Während die Mitochondrien von Fettzellen Erwachsener nicht auf Carnitinzugabe ansprachen, reagierten die Mitochondrien von polyvakuolären Fettzellen des Neugeborenen mit einer Steigerung ihres O_2 -Verbrauchs. Diese Untersuchungen führten zu der Spekulation, daß die Fettsäureoxidation im Fettgewebe des menschlichen Neugeborenen Carnitin-abhängig ist.

Abbildung 4. Isolierte Fettzellen des subkutanen weißen Fettgewebes eines Neugeborenen. Zwei Zelltypen lassen sich unterscheiden: Große univakuoläre Zellen und kleine polyvakuoläre Zellen; aus Novak et al. (111).



Abbildung 5. Isolierte polyvakuoläre, mitochondrienreiche Fettzelle des subkutanen weißen Fettgewebes eines Neugeborenen. L = Fettvakuolen, N = Nukleus, m = Mitochondrien; aus Novak et al. (111).



1.5.3 Braunes Fettgewebe der Nager

Schon 1968 hatte die Arbeitsgruppe von *Hahn* (113) gefunden, daß der O_2 -Verbrauch der Mitochondrien des braunen Fettgewebes der Nagetiere von Carnitin abhängt. Eine Reihe weiterer Untersuchungen lieferte dann Hinweise dafür, daß Carnitin eine Wirkung auf die zitterfreie Thermogenese im braunen Fettgewebe hat (114). So erhöht sich der O_2 -Verbrauch von mit Noradrenalin behandelten Ratten und Mäusen, wenn Carnitin zusätzlich gegeben wird (115). Der Anstieg des O_2 -Verbrauchs von saugenden Ratten nach Kälteexposition kann durch Hemmer der Azyl-Carnitin-Transferase wie Deoxycarnitin oder D-Carnitin reduziert werden (116). In vitro kommt es in Anwesenheit von Deoxycarnitin ebenfalls zu einer Hemmung des O_2 -Verbrauchs von durch Noradrenalin stimuliertem braunen Fettgewebe.

Die Ergebnisse der genannten Untersuchungen an Mensch und Tier lassen zusammenfassend den Schluß zu, daß mit der Geburt ein Wechsel von einem anabolen zu einem stark katabolen Fettstoffwechsel stattfindet, bei dem Carnitin eine bedeutende Rolle spielt.

2. Fragestellungen und Ziel der Untersuchungen

Gestützt auf das immer umfangreicher gewordene Wissen über die Biochemie des Carnitins und auf die Kenntnis der Stoffwechselvorgänge um die Geburt herum, stellt die vorliegende Arbeit den Versuch dar, tierexperimentell gewonnene Erkenntnisse auf den Menschen zu übertragen, damit das Wissen über die Physiologie der Perinatalperiode des Menschen zu erweitern und eine mögliche praktisch-klinische Anwendung dieses Wissens aufzuzeigen.

Carnitin spielt offenbar eine Schlüsselrolle beim Fettsäureabbau. Es lag daher nahe, nach der Verfügbarkeit dieser Substanz in einer Lebensperiode zu fragen, in der die Energie überwiegend aus dem katabolen Fettstoffwechsel kommt. Da der Körper unmittelbar nach der Geburt auf seine Energiereserven angewiesen ist, müssen schon bei der Geburt die Voraussetzungen für diesen Katabolismus gegeben sein, d. h. Substrat, Enzyme und Cofaktoren wie Carnitin müssen ausreichend vorhanden sein.

2.1 Die Versorgung des Feten mit Carnitin

Es stellt sich zunächst die Frage, ob der menschliche Fetus Carnitin zu synthetisieren vermag und/oder Carnitin von der Mutter über die Plazenta erhält. Die Fähigkeit des Feten zur Carnitinsynthese ließ sich am Menschen nicht direkt untersuchen. Indirekte Hinweise versprachen Messungen von Carnitin im Blut (siehe 5.8) und in Geweben (siehe 5.9) Carnitin-frei ernährter Frühgeborener. Der placentare Transfer von Carnitin ließ sich durch Messungen im mütterlichen und fetalen Blut (siehe 5.1) und an der perfundierten menschlichen Plazenta (siehe 5.3) untersuchen.

2.2 Die Rolle des Carnitins im Fettgewebe des Neugeborenen

Da Lebergewebe des Neugeborenen zu experimentellen Zwecken nicht verfügbar ist, wurde die Frage, inwieweit die Fettsäureoxidation beim Neugeborenen

Carnitin-abhängig ist, mit In-vitro-Untersuchungen an isolierten Fettzellen angegangen (siehe 5.6). Ziel der Messungen der Aktivität der mitochondrialen Carnitin-Palmityl-Transferase (siehe 5.5) und des Carnitingehaltes (siehe 5.4) im Fettgewebe war es, entwicklungs- und ernährungsbedingte Änderungen der Carnitin-abhängigen Fettsäureoxidation beim Neugeborenen aufzuzeigen.

2.3 Carnitinmangel bei parenteral ernährten Frühgeborenen

Ob Carnitin für das Neugeborene und speziell für das Frühgeborene ein essentieller Nahrungsbestandteil ist, ist eine Frage von erheblicher klinischer Bedeutung, da im Rahmen der Intensivbehandlung von Frühgeborenen für eine gewisse Zeitdauer eine normale orale Ernährung oft nicht möglich ist und daher eine parenterale Ernährung, die kein Carnitin enthält, durchgeführt werden muß. Ziel der Messungen von Carnitin im Blut (siehe 5.8), Urin (siehe 5.8) und in Geweben (siehe 5.9) von Frühgeborenen war es, einen Carnitinmangel aufzuzeigen. Es stellte sich dann die Frage, ob ein solcher Mangel Auswirkungen auf den Stoffwechsel und damit eine pathophysiologische Bedeutung hat. Der Beantwortung dieser Frage dienten Messungen der Fettstoffwechselfparameter nach Fettinfusion (siehe 5.10). Schließlich wurde eine Carnitinsubstitution von parenteral ernährten Frühgeborenen durchgeführt (siehe 5.11), um herauszufinden, ob dadurch der Carnitin-Blutspiegel normalisiert und die Fettverwertung verbessert werden kann.

3. Methoden der Carnitinbestimmung

Grundsätzlich sind zwei enzymatische Methoden zur Messung von Carnitin in Körperflüssigkeiten und Gewebsextrakten bekannt: eine spektrophotometrische und eine radiochemische Methode.

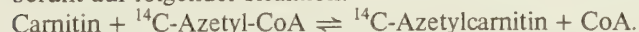
3.1 Spektrophotometrische Methode

Diese wurde 1964 von *Marquis* und *Fritz* (117) entwickelt. Sie beruht auf folgender chemischer Reaktion: Carnitin + Azetyl-CoA $\rightleftharpoons$ Azetylcarnitin + CoA.

Die Reaktion wird durch Carnitin-Azetyl-Transferase (CAT) katalysiert. Durch Komplexbildung von Coenzym A mit 5,5-Dithio-2-nitrobenzoesäure (DTNB) erfolgt eine Farbänderung, die spektrophotometrisch gemessen wird. Gleichzeitig wird das Reaktionsgleichgewicht nach rechts verschoben. Nachteile dieser Methode sind ihre relative Unempfindlichkeit (≥ 5 nMol), gelegentliche Störungen der Farbreaktion durch Anwesenheit von Sulfhydrylgruppen-bindenden Substanzen und der Zeitaufwand bei Messung größerer Probenmengen. Die Methode eignet sich wegen der relativen Einfachheit ihrer Durchführung vor allem für sporadische Carnitinmessungen, z. B. bei Verdacht auf angeborenen Carnitinmangel.

3.2 Radiochemische Methode

Diese wurde erstmals 1972 von *Cederblad* und *Lindstedt* (118) beschrieben. Sie beruht auf folgender Reaktion:



Die Reaktion wird ebenfalls durch CAT katalysiert. Das hierbei gebildete ${}^{14}\text{C}$ -Azetylcarnitin wird mittels eines Ionenaustauschers von überschüssigem ${}^{14}\text{C}$ -Azetyl-CoA getrennt und seine Radioaktivität im Szintillationsspektrophotometer gemessen.

Diese Methode hat im Verlauf der unten beschriebenen Untersuchungen mehrere Modifikationen erfahren:

Da die CAT eine Gleichgewichtsreaktion katalysiert, wird auch in der Probe vorhandenes Azetylcarnitin markiert und größtenteils mitbestimmt. *McGarry* und *Foster* (119) haben daher 1976 Tetrathionat in den Assay eingeführt, das CoASH bindet und damit die Reaktion nach rechts verlaufen läßt. Dadurch ist sichergestellt, daß nur freies Carnitin gemessen wird. Ein immer noch bestehendes Problem war die sehr hohe Radioaktivität der Leerwerte, die die an sich sehr hohe Empfindlichkeit der Methode ($\geq 0,02$ nMol) einschränkte. *Christiansen* und *Bremer* (120) fanden 1978, daß der bei der Reaktion anwesende TRIS-Puffer azetyliert wird und für die hohen Leerwerte verantwortlich ist. Wir konnten dieses Problem durch den Ersatz von TRIS- durch HEPES-Puffer lösen.

3.3 Unsere Modifikation der radiochemischen Methode

Zur Messung von freiem Carnitin enthält das Reaktionsgemisch in einem Endvolumen von 0,25 ml 40 μ Mol HEPES-Puffer, 10 μ Mol EDTA, 2 μ Mol Natriumtetrathionat, 0,025 μ Mol 1- 14 C-Azetyl-CoA (0,025 μ Ci) und 50 μ l Probe.

DL-Carnitin-Standards von 1,25, 2,5, 5 und 10 nMol (entsprechend 0,6, 1,25, 2,5 und 5 nMol L-Carnitin) werden mitgeführt. Die Reaktion wird mit 1 IU CAT gestartet und läuft über 30 Minuten bei Raumtemperatur ab. Nach Stoppen der Reaktion auf Eis wird die Mischung auf eine Säule (35 $\times$ 6 mm) von Dowex 2 $\times$ 8 Ionenaustauscher (200–400 mesh) gegeben, mit 2 $\times$ 0,5 ml H₂O eluiert, in Szintillationsgefäßen aufgefangen und nach Zugabe von Szintillationsflüssigkeit im Szintillationspektrophotometer gemessen.

Zur Messung von Gesamtcarnitin wird 50 μ l Probe mit 100 μ l 0,4 N KOH bei 37 °C für eine Stunde inkubiert, um alle Carnitinerester zu hydrolysieren. Anschließend wird die Probe nach Zugabe von 100 μ l HEPES (0,15 mMol) + EDTA (0,025 mMol) mit HCl neutralisiert (pH 7,4) und auf ein Volumen von 0,3 ml gebracht. Davon wird 0,1 ml zur Reaktion wie bei freiem Carnitin angesetzt. DL-Carnitin-Standards werden durch den Hydrolysierungsschritt mitgeführt.

Die Präzision dieser Methode wurde mit Plasma getestet und betrug für freies Carnitin $x \pm 1\%$ und für Gesamtcarnitin $\bar{x} \pm 2\%$. Die Meßergebnisse waren in Plasma und Serum nicht unterschiedlich.

3.4 Bestimmung der Carnitinerester

In Körperflüssigkeiten wurde die veresterte Carnitinfraktion (Azylcarnitin) indirekt bestimmt:

Carnitin wurde vor (freies Carnitin) und nach Hydrolyse mit KOH (Gesamtcarnitin) gemessen. Die Differenz zwischen Gesamtcarnitin und freiem Carnitin ist Azylcarnitin.

Die Carnitinerester wurden durch Präzipitation mit Perchlorsäure in kurzkettig

und langkettige Azylcarnitine aufgetrennt. Letztere wurden nach Hydrolysierung des gewaschenen Präzipitats gemessen, erstere aus der Differenz zwischen Gesamtazylcarnitin und langkettigem Azylcarnitin errechnet.

Aus Gewebsextrakten wurde nach Präzipitation mit Perchlorsäure säurelösliches und säureunlösliches Carnitin bestimmt. Säurelösliches Carnitin besteht aus freiem Carnitin und kurzkettigen Carnitinstern (bis C₈-Kettenlänge), säureunlösliches Carnitin aus langkettigen Carnitinstern.

4. Statistische Auswertung

Für alle Meßgrößen wurden Mittelwert und Standardabweichung ($\bar{x} \pm s$) errechnet. Zum Vergleich zweier unabhängiger Stichproben wurde der U-Test von *Wilcoxon*, *Mann* und *Whitney* benutzt. Handelte es sich um gepaarte Beobachtungen, so kam der *Wilcoxon*-Test für Paardifferenzen zur Anwendung. Um Zusammenhänge zwischen 2 Variablen zu untersuchen, wurde eine Regressionsanalyse durchgeführt und der Korrelationskoeffizient (r) bestimmt.

5. Carnitin im Stoffwechsel der Perinatalperiode - Eigene Untersuchungen -

5.1 Carnitin-Blutspiegel während Schwangerschaft und Entbindung

5.1.1 Patienten und Methoden

Von zwölf Patientinnen wurden bei einer unkomplizierten vaginalen Entbindung am Termin venöse Blutproben abgenommen. Gleichzeitig erfolgte eine Punktion der Nabelschnurgefäße unmittelbar nach Abklemmung der Nabelschnur zur Gewinnung von arteriellem und venösem Nabelschnurblut. Alle Patientinnen erhielten während der Geburt eine Dauerinfusion von Glukose und Oxytocin. Zusätzlich wurden von sieben Schwangeren, die keine Wehen hatten, zwischen der 38. und 40. Schwangerschaftswoche sowie von sechs nichtschwangeren Frauen venöse Blutproben entnommen. Die Probanden waren nicht nüchtern.

Das heparinisierte Blut wurde sofort auf Eis gesetzt, zentrifugiert und das Plasma bis zur Analyse eingefroren. Gesamtcarnitin und freies Carnitin wurden, wie unter 3.3 angegeben, bestimmt. Als wichtigster Ketonkörper wurde β -Hydroxybutyrat mit der enzymatischen fluorimetrischen Methode von *Persson* (121) gemessen.

5.1.2 Ergebnisse und Kommentar

Die Plasmakonzentrationen von Gesamtcarnitin und freiem Carnitin waren während der letzten zwei Wochen der Schwangerschaft deutlich erniedrigt (Tabelle I). Azylcarnitin und β -Hydroxybutyrat wichen nicht von den Kontrollen (Frauen ohne Schwangerschaft) ab.

Über erniedrigte Werte von Carnitin während der Schwangerschaft wurde schon von *Hahn et al.* (122) und *Scholte et al.* (123) berichtet. Diese Autoren hatten aber nur freies Carnitin gemessen, so daß unklar war, ob der Abfall von freiem Carnitin während der Schwangerschaft mit einem Anstieg von Azylcarnitin einhergeht. Dies ist nach unseren Ergebnissen nicht der Fall und wurde inzwischen

auch von *Bargen-Lockner et al.* (186) verneint. Die Blutspiegel von Gesamtcarnitin und freiem Carnitin scheinen im Verlaufe der Schwangerschaft abzufallen und am niedrigsten kurz vor oder während der Entbindung zu sein. Die Ursache für diesen Abfall ist nicht geklärt. *Scholte et al.* (123) führen ihn auf einen zunehmenden Carnitinbedarf des wachsenden Feten zurück. Wahrscheinlicher ist eine hormonelle Regulation der Carnitinspiegel während der Schwangerschaft. Tierexperimentelle Untersuchungen weisen in diese Richtung (124, 125).

Bei der Geburt kommt es ohne Änderung des Gesamtcarnitins zu einem weiteren Abfall von freiem Carnitin mit einem Anstieg von Azylcarnitin, also zu einem deutlichen Anstieg der AC/FC-Ratio bei gleichzeitigem Anstieg von β -Hydroxybutyrat (Tabelle I). Dies zeigt, ebenso wie die erhöhten und mit Azylcarnitin positiv korrelierenden Ketonkörperspiegel (Abbildung 6), eine erhöhte Rate der Fettsäureoxidation während der Wehentätigkeit an.

Tabelle II zeigt die Korrelationskoeffizienten für Gesamtcarnitin, freies Carnitin, Azylcarnitin und β -Hydroxybutyrat zwischen mütterlichem Blut und venösem Nabelschnurblut sowie zwischen venösem und arteriellem Nabelschnurblut bei der Entbindung. Diese Korrelationen weisen darauf hin, daß Carnitin und Carnitiner, ebenso wie β -Hydroxybutyrat, die Plazenta passieren können. In den meisten Fällen waren Azylcarnitin- und β -Hydroxybutyratspiegel im mütterlichen Blut höher als im Nabelschnurblut ($p < 0,05$ bzw. $p < 0,01$), während für freies Carnitin das Umgekehrte gefunden wurde ($p < 0,01$) (Abbildungen 7 und 8). Für Gesamtcarnitin fanden sich keine signifikanten Unterschiede zwischen mütterlichem Blut und Nabelschnurblut.

Diese Ergebnisse lassen sich wie folgt interpretieren: Während der Entbindung tritt eine akute Änderung des mütterlichen Fettstoffwechsels ein, die zu einem Abfall von freiem Carnitin und zu einem Anstieg von Azylcarnitin und Ketonkörpern im mütterlichen Blut führt. Diese Änderungen der Blutspiegel treten

Tabelle I. Gesamtcarnitin (TC), freies Carnitin (FC), Azylcarnitin (AC) und β -Hydroxybutyrat β OHB) im Plasma von Frauen während der Entbindung, am Ende der Schwangerschaft und ohne Schwangerschaft ($\bar{x} \pm s$).

	Entbindung, n = 12	Ende der Schwangerschaft, n = 7	Ohne Schwangerschaft, n = 6
TC, μ M	20,1 $\pm$ 2,7 ^a	21,0 $\pm$ 5,1 ^a	47,3 $\pm$ 5,9
FC, μ M	10,2 $\pm$ 2,5 ^{a, b}	14,1 $\pm$ 4,6 ^a	40,5 $\pm$ 5,4
AC, μ M	9,9 $\pm$ 1,7 ^{a, c}	6,8 $\pm$ 1,9	6,7 $\pm$ 1,5
AC/FC	1,03 $\pm$ 0,32 ^{a, c}	0,58 $\pm$ 0,44 ^a	0,17 $\pm$ 0,04
β OHB, mM	0,89 $\pm$ 0,57 ^{a, c}	0,06 $\pm$ 0,01	0,05 $\pm$ 0,01

^a $p < 0,01$ verglichen mit Frauen ohne Schwangerschaft

^b $p < 0,05$ verglichen mit Frauen am Ende der Schwangerschaft

^c $p < 0,01$ verglichen mit Frauen am Ende der Schwangerschaft

beim Feten nicht auf und teilen sich dem fetalen Kreislauf erst mit einer gewissen Verzögerung mit. Unter diesen Umständen wäre es möglich, daß die fetoplazentare Einheit aus dem mütterlichen Kreislauf vermehrt Energiesubstrate nicht nur in Form von Ketonkörpern, sondern auch in Form von energiereichen Carnitinstern erhält. Die Abwesenheit eines Konzentrationsgradienten zwischen venö-

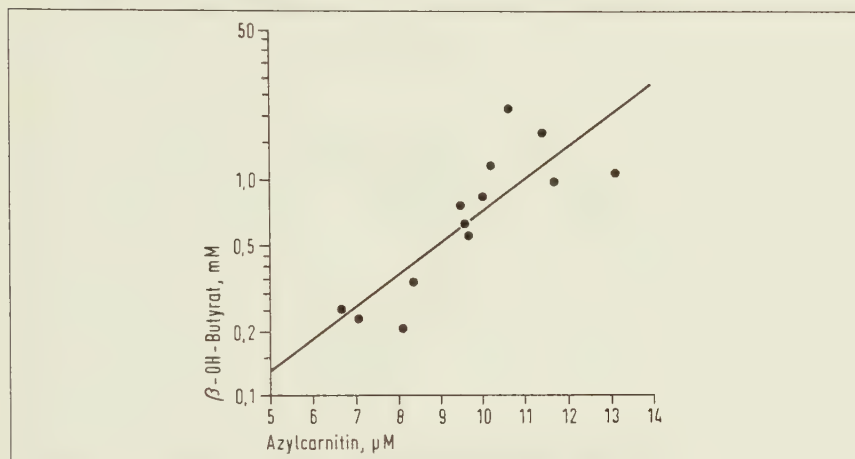


Abbildung 6. Korrelation zwischen mütterlichen Plasmakonzentrationen von β -Hydroxybutyrat und Azylcarnitin bei vaginaler Entbindung.

Tabelle II. Korrelationen der Konzentrationen von Gesamtcarnitin (TC), freiem Carnitin (FC), Azylcarnitin (AC) und β -Hydroxybutyrat (β OHB) zwischen venösem mütterlichen und venösem Nabelschnurplasma sowie zwischen venösem und arteriellem Nabelschnurplasma.

	r	p <
Mütterlich vs.		
Nabelschnurvene		
TC	0,72	0,01
FC	0,75	0,005
AC	0,64	0,025
β OHB	0,82	0,005
Nabelschnurvene vs.		
Nabelschnurarterie		
TC	0,96	0,001
FC	0,93	0,001
AC	0,93	0,001
β OHB	0,91	0,001

sem und arteriellem Nabelschnurblut (Abbildung 7) zeigt, daß weniger der Fet als vielmehr die Plazenta diese Substanzen aufnimmt.

Das Konzentrationsgefälle von freiem Carnitin zwischen mütterlichem und fetalem Blut, das auch von *Hahn et al.* (122) gefunden wurde, könnte allerdings nicht nur auf einen Abfall von freiem Carnitin im mütterlichen Kreislauf, sondern auch auf einen Mechanismus in der Plazenta zurückzuführen sein, durch den

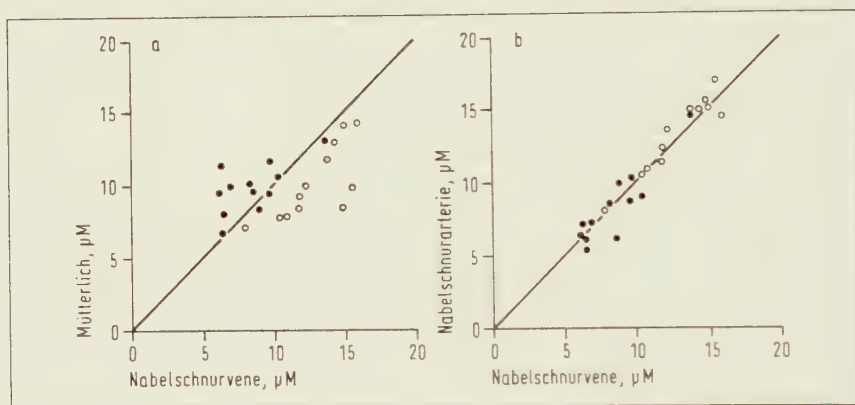


Abbildung 7. Vergleich der Konzentrationen von Azylcarnitin (●) und freiem Carnitin (○) im mütterlichen venösen Plasma, venösen Nabelschnurplasma und arteriellen Nabelschnurplasma bei vaginaler Entbindung. Die Linie der Identität ist eingezeichnet.

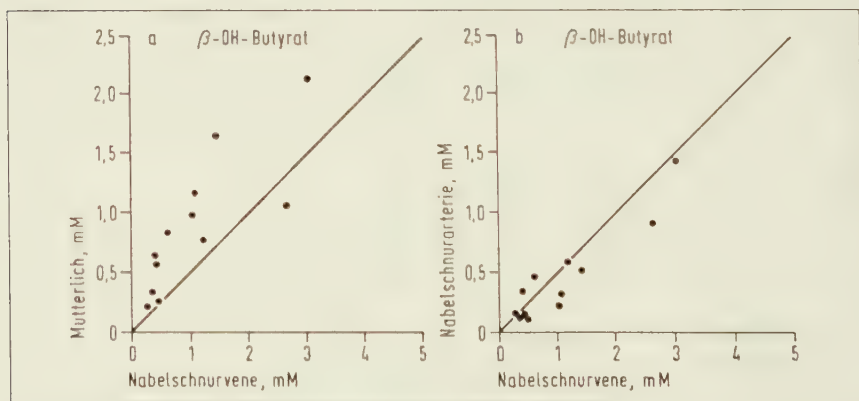


Abbildung 8. Vergleich der Konzentrationen von β -Hydroxybutyrat im mütterlichen venösen Plasma, venösen Nabelschnurplasma und arteriellen Nabelschnurplasma bei vaginaler Entbindung. Die Linie der Identität ist eingezeichnet.

freies Carnitin ähnlich wie Aminosäuren gegen einen Konzentrationsgradienten vom mütterlichen in den fetalen Kreislauf transportiert wird. Der Nachweis eines solchen Mechanismus ließe sich nur unter Ausschaltung von Stoffwechseländerungen in Mutter und Fetus an der Plazenta selbst erbringen.

5.2 Carnitinkonzentrationen im Fruchtwasser

5.2.1 Patienten und Methoden

80 Fruchtwasserproben wurden durch Amniozentese zum Zwecke der Lungenreifebestimmung des Feten an der Universitäts-Frauenklinik Gießen und an verschiedenen Geburtshilflichen Kliniken in der Umgebung gewonnen. 43 dieser Proben stammten von Schwangerschaften mit folgenden Komplikationen:

Schwangerschaftsgestose mit Proteinurie, Ödemen, Hypertonie (n = 10)

Diabetes mellitus Typ I (n = 15)

Plazentainsuffizienz mit sonographischem Hinweis für eine intrauterine Wachstumsretardierung und niedrigen Östriolspiegeln (n = 9)

Rhesusinkompatibilität (n = 9)

Die übrigen Proben stammten von unkomplizierten Schwangerschaften.

Bei acht Patienten wurde die Amniozentese im Abstand von ein bis drei Wochen wiederholt. Das Gestationsalter zum Zeitpunkt der Amniozentese wurde auf der Basis der letzten Regelblutung errechnet und retrospektiv anhand klinischer Parameter nach der Geburt bestätigt oder korrigiert.

Die Fruchtwasserproben wurden zentrifugiert und der Überstand bis zur Messung eingefroren. Gesamtcarnitin und freies Carnitin wurden, wie unter 3.3 beschrieben, gemessen.

Der Lezithin-Sphingomyelin-Quotient (L/S-Ratio) zur Bestimmung der fetalen Lungenreife aus dem Fruchtwasser wurde nach der Methode von *Gluck* (126) in der Modifikation von *Verhoeven* und *Merkus* (127) bestimmt. Die oberflächenaktiven Phospholipide eines Lipidextraktes aus dem Fruchtwasser wurden mit kaltem Azeton ausgefällt und mittels Dünnschichtchromatographie auf mit Kieselgel 60 beschichteten Platten aufgetrennt. Die Flecken wurden nach Besprühen mit einem Phosphomolybdänsäure-haltigen Spray durch Erhitzen sichtbar gemacht. Das Verhältnis von Lezithin zu Sphingomyelin wurde densitometrisch bestimmt und rechnerisch auf einen eingewogenen Standard von $L/S = 2$ bezogen. Eine L/S-Ratio von > 2 zeigt fetale Lungenreife, eine L/S-Ratio von < 2 zeigt Unreife der fetalen Lunge an (126).

5.2.2 Ergebnisse und Kommentar

Wie aus Abbildung 9 hervorgeht, fanden sich keine eindeutigen Veränderungen der Azylcarnitinspiegel im Fruchtwasser bei wiederholten Amniozentesen zwischen der 34. und 38. Schwangerschaftswoche. Zudem waren Azylcarnitinspiegel im Fruchtwasser von »normalen« Schwangerschaften der 31. bis 36. Woche nicht unterschiedlich von denen der 37. bis 42. Woche (Tabelle III), d. h. es konnte kein Zusammenhang zwischen Azylcarnitinspiegeln und dem Gestationsalter gefunden werden. Das gleiche traf auch für freies Carnitin zu. Bei pathologischen Schwangerschaften waren die Konzentrationen von freiem Carnitin und Azylcarnitin im Fruchtwasser ebenfalls nicht vom Gestationsalter abhängig.

Diese Ergebnisse stehen nicht im Widerspruch zu Untersuchungen von *Hahn et al.* (122) und *Novak et al.* (128), die eine negative Korrelation zwischen Gestationsalter und Konzentration von freiem Carnitin und Azylcarnitin im Fruchtwasser fanden. Diese Autoren untersuchten zu einem großen Teil Fruchtwasserproben in der frühen Schwangerschaft (< 20 Wochen). Zu dieser Zeit scheinen Carnitinspiegel im Fruchtwasser höher zu liegen.

Novak et al. (128) fanden eine negative Korrelation zwischen Azylcarnitinspiegel und der L/S-Ratio im Fruchtwasser und schlossen daraus auf eine Rolle der Car-

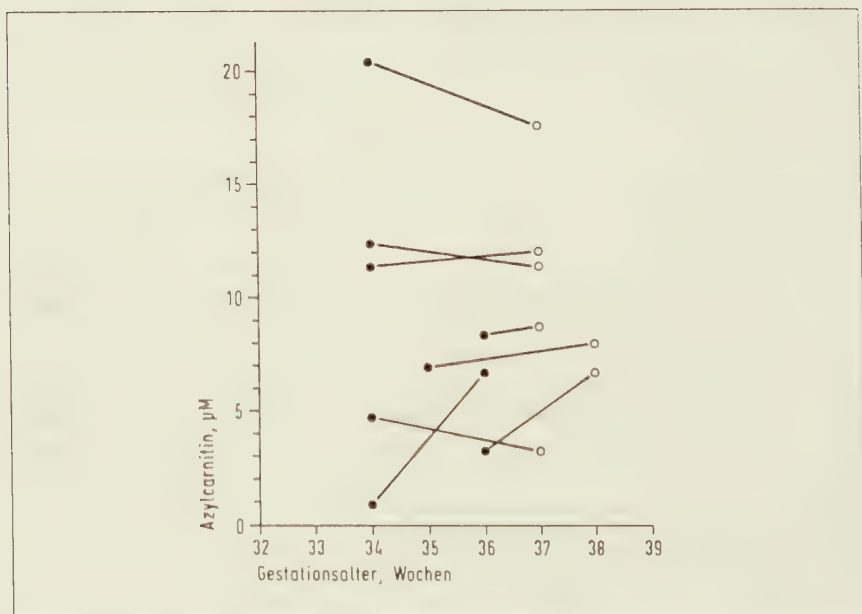


Abbildung 9. Konzentrationen von Azylcarnitin im bei wiederholten Amniozentesen gewonnenen Fruchtwasser in Abhängigkeit vom Gestationsalter. ● L/S-Ratio < 2, ○ L/S-Ratio > 2.

Tabelle III. Konzentrationen von Gesamtcarnitin (TC), freiem Carnitin (FC) und Azylcarnitin (AC) im Fruchtwasser von unkomplizierten Schwangerschaften ($\bar{x} \pm s$).

	31.–36. SSW, n = 24	37.–42. SSW, n = 13
TC, μM	$9,9 \pm 2,6$	$10,5 \pm 2,9$
FC, μM	$5,1 \pm 2,1$	$5,5 \pm 2,3$
AC, μM	$4,8 \pm 2,0$	$5,1 \pm 1,8$

Tabelle IV. Konzentrationen von Gesamtcarnitin (TC), freiem Carnitin (FC) und Azylcarnitin (AC) im Fruchtwasser von unkomplizierten und komplizierten Schwangerschaften ($\bar{x} \pm s$).

	Unkomplizierte Schwangerschaft, n = 37	EPH-Gestose, n = 10	Diabetes mellitus, n = 15	Plazenta- insuffizienz, n = 9	Rhesus- inkompatibilität, n = 9
TC, μM	$10,2 \pm 2,7$	$19,3 \pm 7,4^a$	$17,9 \pm 4,7^a$	$10,7 \pm 1,4$	$9,4 \pm 1,4$
FC, μM	$5,3 \pm 2,1$	$6,4 \pm 2,2$	$8,8 \pm 4,0^a$	$5,6 \pm 1,8$	$4,2 \pm 1,4$
AC, μM	$4,9 \pm 1,9$	$13,0 \pm 7,3^a$	$9,1 \pm 3,7^a$	$5,0 \pm 1,9$	$5,2 \pm 2,0$

^a $p < 0,01$ verglichen mit unkomplizierten Schwangerschaften

nitinester bei der surfactant-Produktion. Wir konnten diese Ergebnisse anhand von wiederholten Amniozentesen nicht bestätigen.

Bei Schwangerschaften, die durch EPH-Gestose oder Diabetes mellitus kompliziert waren, fanden wir dagegen eine deutliche Erhöhung der Azylcarnitinspiegel im Fruchtwasser (Tabelle IV).

Zum Zeitpunkt der Amniozentese wurden keine Fettstoffwechselfparameter im Blut dieser Patientinnen gemessen. In der Literatur wird aber bei schlecht eingestelltem Diabetes in der Schwangerschaft über erhöhte Blutspiegel von freien Fettsäuren und β -Hydroxybutyrat (129) und über erhöhte Fruchtwasserspiegel von β -Hydroxybutyrat (130) berichtet. Bei diabetischer Ketose sind Blutspiegel von Azylcarnitin stark erhöht (48). Über Stoffwechselstörungen bei Schwangerschaftsgestosen ist wenig bekannt, jedoch werden bei diesen Patientinnen ähnliche Veränderungen wie beim Diabetes beschrieben (131). Andererseits gibt es Hinweise für einen erhöhten plazentaren oder fetalen Fettkatabolismus bei Schwangerschaftstoxikose. *Paterson et al.* (132) berichten darüber, daß der mütterlich-fetale Gradient der Ketonkörperkonzentration im Blut bei diesen Schwangerschaften geringer ist als bei normalen Schwangerschaften. Dies würde auf eine erhöhte Ketonkörperproduktion durch Plazenta oder Fet hinweisen. Die von uns gefundenen erhöhten Konzentrationen von Azylcarnitin im Fruchtwasser könnten auf einen vermehrten plazentaren Übertritt von Azylcarnitin während Perioden von abnormem mütterlichen Fettkatabolismus oder aber auf eine erhöhte Rate der Fettsäureoxidation der fetoplazentaren Einheit zurückzu-

führen sein. Bei diabetischer Schwangerschaft ohne EPH-Gestose dürfte aber der hyperinsulinämische Fetus keine bedeutsame Quelle von Metaboliten des Fettkatabolismus sein.

Bei Schwangerschaften mit Plazentainsuffizienz ohne EPH-Gestose fanden wir ebenso wie bei Rh-Inkompatibilität keine erhöhten Azylcarnitinspiegel im Fruchtwasser (Tabelle IV). Dies mag einen normalen mütterlichen Fettstoffwechsel widerspiegeln.

Die Quelle von Carnitin und Carnitineestern im Fruchtwasser ist noch nicht sicher bekannt. *Hahn et al.* (116) konnten trächtigen Ratten appliziertes ^{14}C -D-L-Carnitin im Fruchtwasser nachweisen und postulierten, daß dieses hauptsächlich über die fetale Niere in das Fruchtwasser gelangt. Es ist seit langem bekannt, daß die Zusammensetzung des Fruchtwassers in der späten Schwangerschaft hauptsächlich durch Substanzen im fetalen Urin und in fetaler Lungenflüssigkeit bestimmt wird (133). Die Tatsache, daß das Verhältnis von Azylcarnitin zu freiem Carnitin im Urin von Frühgeborenen am 1. Lebenstag (siehe 5.8) etwa dem im Fruchtwasser vergleichbar (um 1,0) ist, während dieses Verhältnis im Blut von Schwangeren und im fetalen Blut (um 0,5) deutlich niedriger liegt (siehe 5.1), weist auf die fetale Niere als Hauptursprungsort für Carnitin und Carnitinester im Fruchtwasser hin. Die exakte Natur der Carnitinester im Fruchtwasser ist unbekannt. Es finden sich in der Literatur aber Hinweise dafür, daß sie hauptsächlich als Azetylcarnitin vorliegen (128). Langkettige Carnitinester sind weder im Urin noch im Fruchtwasser nachweisbar (eigene Beobachtungen).

5.3 Transfer und Stoffwechsel von Carnitin in der in vitro perfundierten menschlichen Plazenta

5.3.1 Material und Methoden

Perfusionstechnik

Die Plazenten wurden nach unkomplizierter vaginaler oder abdomineller Entbindung gewonnen und sofort für die Experimente verwendet. In Anlehnung an die von *Schneider et al.* (149) entwickelte Technik der doppelseitigen Perfusion der menschlichen Plazenta wurden die fetale Arterie und Vene eines intakten Lobulus kanüliert (Abbildung 10) und perfundiert. Der Rest der Plazenta wurde entfernt und das Präparat mit der fetalen Seite nach unten in einer thermostatisierten Plexiglaskammer fixiert (Abbildung 11). Anschließend wurden 3 bis 5 Stahlkanülen in den intervillösen Raum eingeführt und durch diese das mütterliche Strömungskompartiment der Plazenta ebenfalls perfundiert. Die Zeitdauer zwischen Entwicklung der Plazenta und Etablierung beider Kreisläufe betrug maximal 30 Minuten.

Das aus der Dezidualplatte austretende Medium (mütterlich-venös, MV) wurde abgesaugt und wie das aus der fetalen Vene fließende Medium (FV) zur Analyse aufgefangen. Die Perfusionsmedien bestanden aus EARL's-Puffer, 2% oder 0,4%

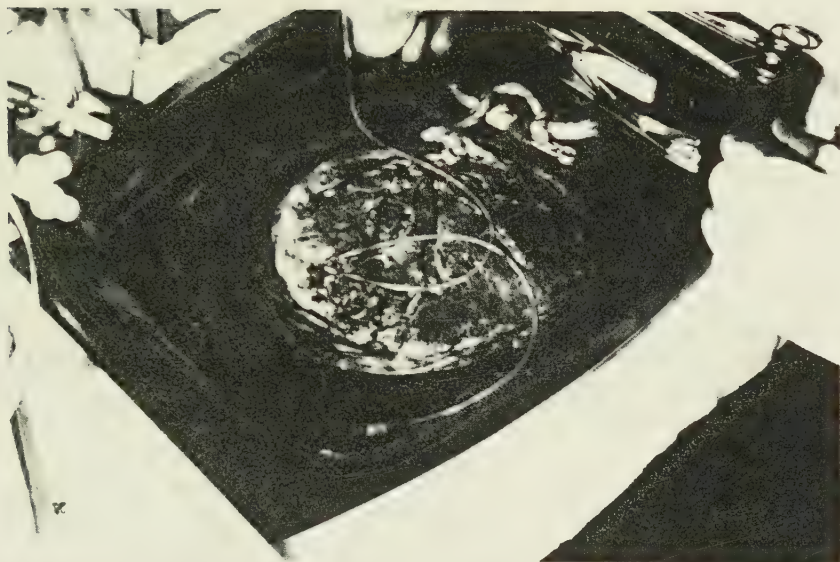


Abbildung 10. Fetale Seite einer Plazenta kurz nach der Entbindung: Arterie und Vene eines Lobulus sind kanüliert. Der arterielle Schenkel des fetalen Kreislaufs ist bereits an das Perfusionssystem angeschlossen (oben). Noch in den fetalen Gefäßen befindliches Blut fließt über den venösen Schenkel (unten) ab. Das perfundierte Areal ist heller als die übrigen Abschnitte der Plazenta (linker Rand).



Abbildung 11. Mütterliche Seite eines in einer thermostatisierten Plexigaskammer fixierten Kotyledons. Der intervillöse Raum wird von oben über drei Kanülen (mütterliche Arterie) perfundiert. Das aus der Dezidualplatte austretende Medium wird nach unten abgesaugt (mütterliche Vene).

Human-Serumalbumin, Glukose und Aminosäuren in physiologischer Konzentration. Sie wurden in einem thermostatisierten Wasserbad bei 37 °C gehalten und mit 95% O₂/5% CO₂ begast. Flow und Druck wurden in beiden Kreisläufen kontinuierlich gemessen. Die Flowraten schwankten zwischen 10 und 15 ml/min. Details der Apparatur gehen aus Abbildung 12 hervor.

Die Vitalität des Organpräparates wurde durch Messungen des Glukoseverbrauchs und der Laktat- und Pyruvatproduktion beurteilt: Der Glukoseverbrauch betrug $0,16 \pm 0,12 \mu\text{Mol/min} \cdot \text{g}$, die Laktatproduktion $0,39 \pm 0,15 \mu\text{Mol/min} \cdot \text{g}$ und die Pyruvatproduktion $0,02 \pm 0,01 \mu\text{Mol/min} \cdot \text{g}$ perfundiertes Gewebe. Ähnliche Werte wurden auch im Tierversuch in vivo gefunden (135, 136). Farbverdünnungskurven nach Injektionen von Evans-Blau in beide Kreisläufe lieferten Hinweise auf die Qualität der Perfusion. Die Versuchsanordnung von drei Versuchsserien ist in Tabelle V dargestellt.

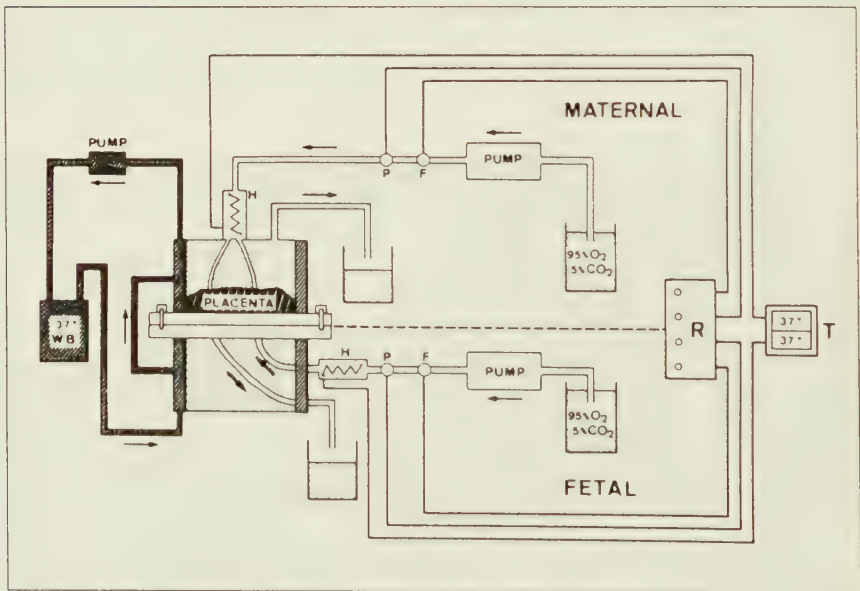


Abbildung 12. Schematische Darstellung der beiden (offenen) Kreisläufe der perfundierten Plazenta: Das mit 95% O₂/5% CO₂ begaste Medium wird über eine temperaturregulierte (T) Heizspirale (H) in die in einer Plexiglasskammer fixierte Plazenta gepumpt. Dabei werden Druck (P) und Strömungsrate (F) gemessen und registriert (R). Die Temperatur in der Kammer wird durch ein Wasserbad (WB) bei 37 °C konstant gehalten; aus Schneider et al. (134).

Tabelle V. Versuchsanordnung von drei Versuchsserien an der perfundierten Plazenta mit offenem mütterlichen Kreislauf.

Serie	Mütterliches Medium	Fetales Medium	Fetaler Kreislauf
I	L-Carnitin ↓ L-Azetylcarnitin ↓ L-Palmitylcarnitin	○	offen
II	L-Carnitin + ³ H-L-Lysin oder L-Azetylcarnitin + ³ H-L-Lysin	L-Carnitin + ³ H-L-Lysin oder L-Azetylcarnitin + ³ H-L-Lysin	geschlossen
III	¹⁴ C-L-Carnitin + ³ H-L-Lysin oder ¹⁴ C-L-Carnitin + ³ H-D-Carnitin	L-Carnitin + L-Lysin oder D, L-Carnitin	geschlossen

Versuchsserie I

In fünf Experimenten wurden beide Kreisläufe offen gehalten und in drei Versuchsphasen zum mütterlichen Medium, das als Referenzsubstanz Antipyrin (8 mg/l) enthielt, hintereinander L-Carnitin (30 µMol/l), L-Azetylcarnitin (30 µMol/l) und L-Palmitylcarnitin (20 µMol/l) zugegeben. Das fetale Medium enthielt weder Carnitin noch Antipyrin. Die drei Versuchsphasen dauerten je etwa 30 Minuten und wurden durch 15minütige Spülphasen mit Carnitin-freiem Medium unterbrochen. Während jeder Versuchsphase wurden drei Proben und am Ende jeder Spülphase eine Probe aus beiden Kreisläufen zur Analyse entnommen und eingefroren. Die Reihenfolge der zum Medium addierten Substanzen (L-Carnitin, L-Azetylcarnitin, L-Palmitylcarnitin) wurde im Verlauf der Versuchsserie gewechselt.

Folgende Kalkulationen wurden gemacht:

$$\text{Transfer} = \frac{C_{FV} \times Q_F}{\text{g perfundiertes Gewebe}}$$

$$\text{Clearance} = \frac{C_{FV} \times Q_F}{C_{MA}}$$

C ist die Konzentration der gemessenen Substanz in dem auf der mütterlichen Seite zufließenden (MA) bzw. auf der fetalen Seite abfließenden (FV) Medium. Q_F ist die fetale Flow-Rate.

Der Transfer ist ein Maß für die von dem mütterlichen in den fetalen Kreislauf gelangte Menge einer Substanz. Die Clearance berücksichtigt zusätzlich den transplazentaren Gradienten (hier gleichbedeutend mit der Konzentration in MA) und ist somit ein Maß für die Durchlässigkeit der Plazenta für die betreffende Substanz. Da der Transfer von Antipyrin nicht von der Permeabilität der Plazentamembran, sondern nur von der Strömungsgeschwindigkeit abhängt, hat sich Antipyrin als Referenzsubstanz bewährt (137). Durch Angabe der Clearance-Werte der untersuchten Substanz in % der Antipyrin-Clearance (Clearance-Index) werden strömungsbedingte Unterschiede zwischen einzelnen Versuchen weitgehend eliminiert.

Versuchsserie II

In sieben weiteren Experimenten wurde nach einer 25 Minuten dauernden Initialphase mit offenen Kreisläufen der fetale Kreislauf geschlossen (Volumen etwa 100 ml), d. h. das fetale Medium wurde rezirkuliert. Der mütterliche Kreislauf blieb offen, so daß die Konzentration aller der Plazenta angebotenen Substanzen konstant war. Mit Ausnahme von Antipyrin, das nur im mütterlichen Medium vorhanden war, waren mütterliches und fetales Medium identisch. Sie enthielten ^3H -markiertes L-Lysin (20 mg/l; 1,5 $\mu\text{Ci/l}$) und L-Carnitin (30 $\mu\text{Mol/l}$), in einem Versuch L-Azetilcarnitin (30 $\mu\text{Mol/l}$). Nach 30, 60, 90, 120 und 150 Minuten Rezirkulation wurde je eine Probe aus dem mütterlichen und fetalen Kreislauf zur Analyse entnommen.

Versuchsserie III

In zehn weiteren Experimenten war die Versuchsanordnung ähnlich der in Versuchsserie II. Zum mütterlichen Medium wurden folgende radiomarkierte Substanzen zugegeben:

- a) ^{14}C -L-Carnitin (30 $\mu\text{Mol/l}$, 2,5 $\mu\text{Ci/l}$) und ^3H -L-Lysin (20 mg/l, 20 $\mu\text{Ci/l}$)
(6 Versuche)
- b) ^{14}C -L-Carnitin (30 $\mu\text{Mol/l}$, 2,5 $\mu\text{Ci/l}$) und ^3H -D-Carnitin (30 $\mu\text{Mol/l}$, 10 $\mu\text{Ci/l}$)
(4 Versuche)

Das fetale Medium enthielt die entsprechenden unmarkierten Substanzen in gleicher Konzentration. Die Probenentnahme erfolgte wie in Versuchsserie II. Nach Beendigung des Experimentes wurde die Perfusion für etwa zehn Minuten mit unmarkiertem Medium fortgesetzt, um möglichst viel Radioaktivität aus dem Intravasalraum der Plazenta zu entfernen. Anschließend wurden einige Gewebestücke aus der Plazenta entnommen und eingefroren.

Wenn auf beiden Seiten der Plazenta die Konzentrationen gleich sind, ist die Rate des Erscheinens von Radioaktivität auf der fetalen Seite ein Maß für den transplazentaren Austausch von Substanzen. Es ist bekannt, daß die transplazentare Austauschrate, solange sie mit der Dauer der Rezirkulation des fetalen Kreislaufs linear verläuft, der maximalen Transferrate bei offenen Kreisläufen (entspre-

chend Versuchsserie I) nahekommt (138). Daher lassen sich transplazentärer Austausch und Transfer gleichsetzen.

Um die Unterschiede zwischen L-Carnitin, D-Carnitin und L-Lysin im Transfer über die Plazentamembran zu verdeutlichen, wurden in jedem Experiment die transplazentären Austauschraten (E) für die ^{14}C - und ^3H -markierten Substanzen berechnet und zueinander in ein Verhältnis gesetzt (relativer transplazentärer Austausch).

$$\frac{E \text{ transplazentar } ^{14}\text{C}}{E \text{ transplazentar } ^3\text{H}} = \frac{FV \text{ } ^{14}\text{C}}{MA \text{ } ^{14}\text{C}} \times \frac{MA \text{ } ^3\text{H}}{FV \text{ } ^3\text{H}}$$

wobei FV und MA die im fetalen und mütterlichen Medium gemessenen Radioaktivitäten sind.

Analog dazu wurden Unterschiede in der Aufnahme dieser Substanzen in das Plazentagewebe durch Berechnung des relativen plazentären Austauschs ermittelt:

$$\frac{E \text{ plazentar } ^{14}\text{C}}{E \text{ plazentar } ^3\text{H}} = \frac{P \text{ } ^{14}\text{C}}{MA \text{ } ^{14}\text{C}} \times \frac{MA \text{ } ^3\text{H}}{P \text{ } ^3\text{H}}$$

wobei P die gemessene Radioaktivität im Plazentagewebe ist.

Analytik

Folgende Messungen wurden aus den Proben der Perfusionsmedien vorgenommen: Freies Carnitin, Gesamtcarnitin und langkettige Carnitiner, wie unter 3.3 und 3.4 beschrieben. Glukose, Pyruvat und Laktat mit der Glukoseoxidase- und der Laktatdehydrogenase-Methode; Antipyrin nach der Methode von Brodie (139). Die Radioaktivität wurde in einem 2kanaligen ($^3\text{H}/^{14}\text{C}$) Szintillationsspektrophotometer gemessen. Zur Auftrennung markierter Carnitine wurden 10 ml des am Ende jedes Experimentes aufgefangenen fetalen Perfusionsmediums mit 1 ml 25%iger Perchlorsäure versetzt und zentrifugiert. Das Sediment wurde mit Perchlorsäure gewaschen, mit KOH hydrolysiert und die Radioaktivität (langkettige Carnitiner) gemessen. Der Überstand wurde neutralisiert, gefriergetrocknet, in 0,5 ml Methanol: H_2O (9:1, v/v) gelöst, auf eine Säule mit Kieselgel 60 (1,6 cm $\varnothing$, 1 cm hoch) aufgetragen und mit Methanol: H_2O (9:1, v/v) eluiert. Die ersten 4 ml des Eluats enthielten keine Radioaktivität, sondern Salze. Sie wurden verworfen. Die folgenden 12 ml wurden aufgefangen und evaporiert. Nach Zugabe von je etwa 50 μg D, L-Carnitin und L-Azetilcarnitin wurde die Probe in einer kleinen Menge Methanol gelöst und auf eine mit Kieselgel 60 beschichtete Chromatographieplatte aufgetragen. Die Auftrennung erfolgte über zwei Stunden in Chloroform-Methanol-Wasser-konz. Ammonium-konz. Ameisensäure (55:35:5:2:3, v/v). Die Substanzen wurden mit Joddampf sichtbar gemacht. Die R_f -Werte betrugen für freies Carnitin 0,23 und für Azetylarnitin 0,26. Die Trennung dieser beiden Substanzen war vollständig. Nach Evaporation des Jods wur-

den die Flecken von der Platte gekratzt, direkt in Szintillationsflüssigkeit gelöst und die Radioaktivität gemessen.

5.3.2 Ergebnisse und Kommentar

Versuchsserie I (siehe auch Tabelle V)

Clearance, Clearance-Index und Transfer von freiem Carnitin waren in allen Experimenten etwas größer als die von Azetylcarnitin (Unterschied nicht signifikant) und deutlich niedriger als die von Glukose ($p < 0,01$) (Tabelle VI).

Für Palmitylcarnitin war in keinem Experiment ein plazentärer Übertritt nachweisbar.

Bezogen auf die Gesamtplazenta errechnet sich der maximale Transfer von Carnitin vom mütterlichen zum fetalen Kreislauf auf etwa 500 $\mu\text{Mol/Tag}$. Die Größe des Gesamtcarnitin-Pools des menschlichen Feten ist nicht bekannt. Geht man aber von dem bei Tieren gemessenen Pool von 40 $\mu\text{Mol/100 g}$ Körpergewicht (140) aus und vernachlässigt Stoffwechsel und Ausscheidung, so ergibt sich bei einer fetalen Wachstumsrate von 30 g/Tag im letzten Drittel der Schwangerschaft ein Carnitinbedarf des Feten von 12 $\mu\text{Mol/Tag}$. Dies bedeutet, daß die Kapazität der Plazenta, Carnitin an den fetalen Kreislauf abzugeben, etwa 40mal höher ist als der vermutete Carnitinbedarf des Feten.

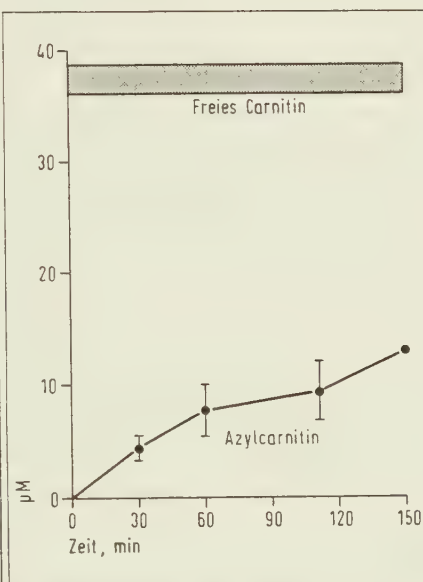
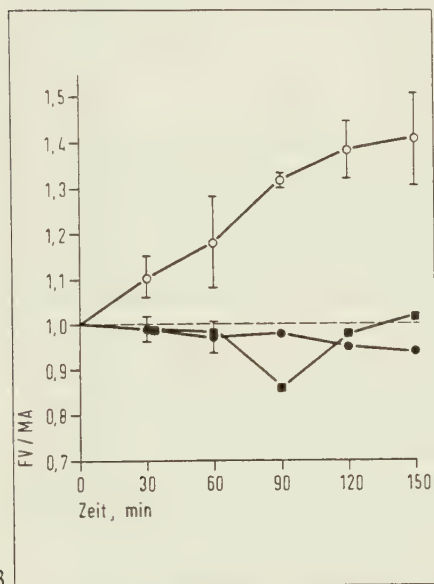
Einschränkend muß hinzugefügt werden, daß die *in vitro* perfundierte Plazenta zwar dazu geeignet ist, qualitative Unterschiede im plazentaren Transfer verschiedener Substanzen aufzuzeigen, quantitative Messungen mit diesem Modell aber nicht ohne weiteres auf die intakte Plazenta *in vivo* übertragbar sind. Hinzu kommt, daß unsere Untersuchungen nur an der Plazenta am Termin, nicht aber an der Plazenta zu einem früheren Zeitpunkt der Schwangerschaft, wenn die Hauptmasse der fetalen Gewebe gebildet wird, durchgeführt wurden.

Die Messungen von freiem Carnitin und Gesamtcarnitin im venösen Schenkel des mütterlichen Kreislaufs (MV) ergaben Hinweise auf eine Rolle der Plazenta

Tabelle VI. Clearance, Clearance-Index und Transfer ($\bar{x} \pm s$) verschiedener Substanzen vom mütterlichen in den fetalen Kreislauf gemessen an der *in vitro* perfundierten menschlichen Plazenta. Beide Kreisläufe blieben offen. Die aufgeführten Substanzen wurden nur dem mütterlichen, nicht dem fetalen Medium zugegeben.

	n	Clearance, ml/min	Clearance- Index, %	Transfer, nmol/min · g Plazenta
Antipyrin	7	$2,93 \pm 0,54$	100	
D-Glukose	7	$1,87 \pm 0,52$	63 ± 11	
L-Carnitin	7	$0,57 \pm 0,26$	20 ± 6	$0,8 \pm 0,2$
L-Azetylcarnitin	4	$0,41 \pm 0,11$	15 ± 4	$0,7 \pm 0,3$
L-Palmitylcarnitin	5	0	0	0

im Carnitinstoffwechsel: Enthielt das Medium, mit dem die mütterliche Seite perfundiert wurde (MA), L-Carnitin, so ließ sich in MV bis zu 30% des Gesamtcarnitins als Azylcarnitin nachweisen. Andererseits erschien freies Carnitin (bis zu 10% des Gesamtcarnitins) in MV, wenn MA Azetylcarnitin oder Palmitylcarnitin enthielt. Bei Perfusion mit Palmitylcarnitin betrug in einigen Experimenten die Konzentration von Palmitylcarnitin in MV nur etwa 60% der von MA, ohne daß ein Transfer in den fetalen Kreislauf nachzuweisen gewesen wäre. Diese Beobachtungen weisen darauf hin, daß die Plazenta Carnitin und Carnitinerester für den eigenen Stoffwechsel verwenden und teilweise Carnitin esterifizieren bzw. Azylcarnitin hydrolysieren kann.



13

14

Abbildung 13. Fetale (FV): mütterliche (MA) Konzentration von L-Carnitin (●—●, $\bar{x} \pm s$, $n=3$), L-Azetylcarnitin (■—■, $n=1$) und ³H-L-Lysin (○—○, $\bar{x} \pm s$, $n=4$) in Abhängigkeit von der Dauer der fetalen Rezirkulation. Die Konzentrationen der den Perfusionsmedien zugegebenen Substanzen waren zu Beginn der Experimente auf beiden Seiten der Plazenta gleich (Gradient = 1,0). Der mütterliche Kreislauf blieb offen.

Abbildung 14. Konzentrationen von Azylcarnitin ($\bar{x} \pm s$, $n=5$) im fetalen Kreislauf (FV) in Abhängigkeit von der Dauer der fetalen Rezirkulation. Zu Beginn der Experimente enthielten mütterliches und fetales Perfusionsmedium nur L-Carnitin in gleicher Konzentration. Die mittleren Konzentrationen von freiem Carnitin in FV lagen in dem schraffierten Bereich. Der mütterliche Kreislauf blieb offen.

Versuchsserie II (siehe auch Tabelle V)

In den Experimenten, in denen sich im Verlauf der fetalen Rezirkulation für L-Lysin ein fetaler:mütterlicher Konzentrationsgradient von > 1 ausbildete ($n = 4$), war ein ähnlicher Gradient weder für L-Carnitin noch für L-Azetylcarnitin nachweisbar (Abbildung 13). Dies bedeutet, daß für letztere Substanzen ein aktiver Transport vom mütterlichen in den fetalen Kreislauf nicht demonstriert werden konnte.

Bei der Perfusion beider Kreisläufe mit L-Carnitin unter Rezirkulation des fetalen Kreislaufs kam es zu einer mit der Dauer der Rezirkulation zunehmenden Anhäufung von Carnitineestern im fetalen Medium (Abbildung 14). Bereits nach 60 Minuten Rezirkulation waren im fetalen Kreislauf $18,5 \pm 7,2\%$ des Gesamtcarnitins als Azylcarnitin nachweisbar. Dabei konnten keine langkettigen Carnitinester gemessen werden. Diese Ergebnisse zeigen, daß die Plazenta kurzkettige Carnitinester entweder aus dem eigenen Azylcarnitin-Pool oder nach Veresterung von freiem Carnitin aus dem mütterlichen Kreislauf an den fetalen Kreislauf abgibt.

Versuchsserie III (siehe auch Tabelle V)

Abbildung 15 zeigt das Erscheinen von ^{14}C -L-Carnitin und von ^3H -L-Lysin im fetalen Medium (FV) in Abhängigkeit von der Dauer der Rezirkulation des fetalen Kreislaufs. Die Radioaktivitäten in FV wurden auf die im mütterlichen Medium (MA) bezogen $\left(\frac{\text{cpm FV} \cdot 100}{\text{cpm MA}} \right)$. Die Radioaktivität von L-Lysin erreichte 150 Minuten nach Beginn der fetalen Rezirkulation in FV annähernd die gleichen Werte wie in MA. In drei Experimenten stieg sie sogar über die in MA an. Der Anstieg der Radioaktivität von L-Carnitin in FV war dagegen wesentlich langsamer und erreichte am Ende des Versuches etwa 50% der von MA.

In den Experimenten, in denen ^{14}C -L-Carnitin und ^3H -D-Carnitin zum mütterlichen Kreislauf zugegeben wurde ($n = 4$), war die Radioaktivität in FV $\left(\frac{\text{cpm FV} \times 100}{\text{cpm MA}} \right)$ von L-Carnitin immer etwas niedriger als die von D-Carnitin. Das gleiche traf für die Radioaktivitäten im mütterlichen venösen Schenkel $\left(\frac{\text{cpm MV} \cdot 100}{\text{cpm MA}} \right)$ zu (Abbildung 16).

Daraus ist folgendes zu schließen:

Es wurde mehr physiologisches L- als unphysiologisches D-Carnitin aus dem mütterlichen Kreislauf aufgenommen. Entsprechend lagen die nach den in 5.3.1 angegebenen Formeln berechneten relativen Austauschraten für L- und D-Carnitin (L:D) vom mütterlichen Kreislauf in die Plazenta (plazentarer Austausch) über 1 (Tabelle VII).

Ein bevorzugter Übertritt von L-Carnitin in den fetalen Kreislauf war nicht nach-

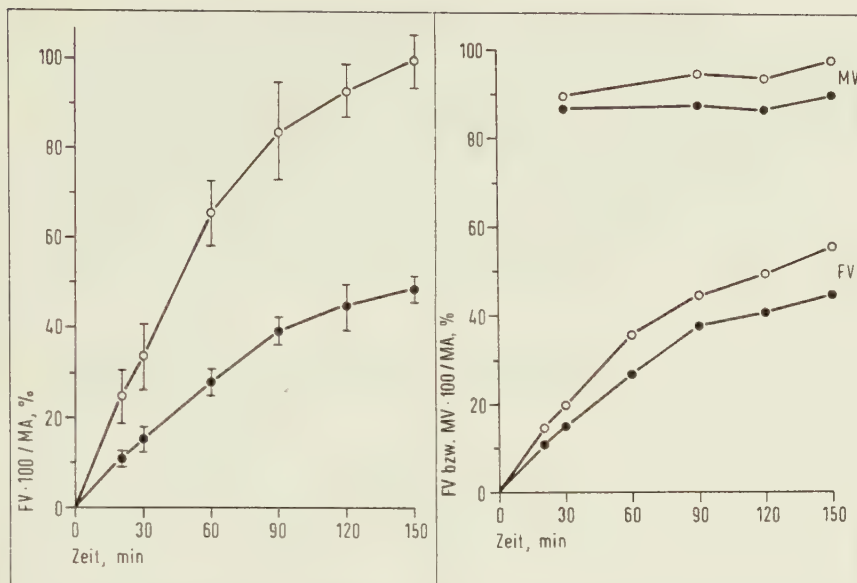


Abbildung 15. Radioaktivität von ^{14}C -L-Carnitin (●—●, $n = 7$) und ^3H -L-Lysin (○—○, $n = 4$) im fetalen Kreislauf (FV) in % der Radioaktivität des mütterlichen Perfusionsmediums (MA) in Abhängigkeit von der Dauer der fetalen Rezirkulation ($\bar{x} \pm s$). Die Konzentrationen von L-Carnitin und L-Lysin waren zu Beginn der Experimente auf beiden Seiten der Plazenta gleich. Nur in MA waren die Substanzen markiert. Der mütterliche Kreislauf blieb offen.

Abbildung 16. Radioaktivität von ^{14}C -L-Carnitin (●—●) und ^3H -D-Carnitin (○—○) im fetalen Kreislauf (FV) und im venösen Schenkel des mütterlichen Kreislaufs (MV) in % der Radioaktivität des mütterlichen Perfusionsmediums (MA) in Abhängigkeit von der Dauer der fetalen Rezirkulation. Die Kurven geben ein repräsentatives Experiment wider. Mütterliches und fetales Perfusionsmedium enthielt D, L-Carnitin, das nur in MA markiert war. Der mütterliche Kreislauf blieb offen.

Tabelle VII. Relative Austauschraten für L- und D-Isomere von Carnitin (L:D) gemessen in vier Versuchen an der in vitro perfundierten menschlichen Plazenta (Erläuterung s. Text).

	Transplazentar	Plazentar
1.	0,87	1,32
2.	0,88	1,51
3.	0,82	1,19
4.	0,78	2,48

Die Zahlen wurden aus dem Verhältnis zwischen der Radioaktivität von ^{14}C -L-Carnitin und ^3H -D-Carnitin, die nach 60 Minuten Rezirkulation des fetalen Kreislaufs über die Plazenta (transplazentar) bzw. in die Plazenta (plazentar) gelangte, errechnet (Formel s. 5.3.1).

weisbar. Die in Tabelle VII angegebenen relativen Austauschraten (L:D) von der mütterlichen auf die fetale Seite (transplazentarer Austausch) lagen sogar unter 1. Dies könnte damit zusammenhängen, daß zum Zeitpunkt der Probenentnahme der intrazelluläre plazentare Pool von markiertem L-Carnitin noch nicht voll mit dem intravasalen Pool von markiertem L-Carnitin äquilibriert ist. Dadurch ist die Konzentration von L-Carnitin in der Plazenta zwar höher, die spezifische Aktivität von L-Carnitin aber niedriger als im mütterlichen Kreislauf. Dies führt zu einer »Verdünnung« des Isotops im fetalen Medium. Für markiertes D-Carnitin kann ein solcher Verdünnungseffekt hingegen nicht auftreten.

Tabelle VIII. Relative Austauschraten für L-Carnitin und L-Lysin (Carnitin:Lysin) gemessen in vier Versuchen an der in vitro perfundierten menschlichen Plazenta (Erläuterung siehe Text).

	Transplazentar	Plazentar
1.	0,50	1,09
2.	0,50	0,94
3.	0,42	1,00
4.	0,31	0,92

Die Zahlen wurden aus dem Verhältnis zwischen der Radioaktivität von ^{14}C -L-Carnitin und ^3H -L-Lysin, die nach 60 Minuten Rezirkulation des fetalen Kreislaufs über die Plazenta (transplazentar) bzw. in die Plazenta (plazentar) gelangte, errechnet (Formeln siehe 5.3.1).

Die relativen Austauschraten für L-Carnitin und L-Lysin (Carnitin:Lysin) sind in Tabelle VIII angegeben: Daraus geht hervor, daß der Transfer von L-Carnitin über die Plazentamembran nur etwa halb so groß ist wie der von L-Lysin, während die Aufnahme in das Plazentagewebe für beide Substanzen etwa gleich ist. Die chromatographische Isolierung von Carnitin und Azetylcarnitin aus dem fetalen Medium am Ende der Versuche ergab den Nachweis von ^{14}C -Azetylcarnitin in einer Konzentration zwischen 2 und 5% der Gesamtradioaktivität. Markierte langkettige Carnitinerester im Perchlorsäurepräzipitat waren hingegen im Medium nicht nachweisbar.

Diese Ergebnisse lassen die Schlußfolgerung zu, daß

- a) der Transport von Carnitin vom mütterlichen Kreislauf in das Plazentagewebe stereospezifisch ist,
- b) der Transport von Carnitin über die plazentare Membran wesentlich langsamer als der von Lysin ist und
- c) die Plazenta aus dem mütterlichen Kreislauf aufgenommenes Carnitin teilweise verestert und an den fetalen Kreislauf abgibt.

Die in der Literatur angegebene Permeabilität der *in vitro* perfundierten menschlichen Plazenta für unphysiologische inerte Substanzen wie D-Aminosäuren (138) und L-Glukose (134), die ein ähnliches Molekulargewicht wie Carnitin haben, ist der von L-Carnitin ähnlich. Daher ist die Annahme berechtigt, daß L-Carnitin wie diese und wie D-Carnitin durch passive Diffusion vom mütterlichen in den fetalen Kreislauf gelangt. Im Gegensatz zu diesen inerten Substanzen wird L-Carnitin aber offensichtlich durch einen aktiven Transport in die Plazentazelle aufgenommen. Ein solcher Transportmechanismus wurde bereits für Muskel- (62), Herz- (64) und Leberzellen (66) nachgewiesen.

5.4 Carnitinkonzentration im subkutanen Fettgewebe des Neugeborenen

5.4.1 Material und Methoden

43 Fettgewebsbiopsien wurden bei gesunden, am Termin geborenen Neugeborenen im Alter von einer Stunde bis sieben Tagen mittels einer von *Novak* und *Melichar* (141) entwickelten Biopsienadel durchgeführt (Abbildung 17). Dazu wurde

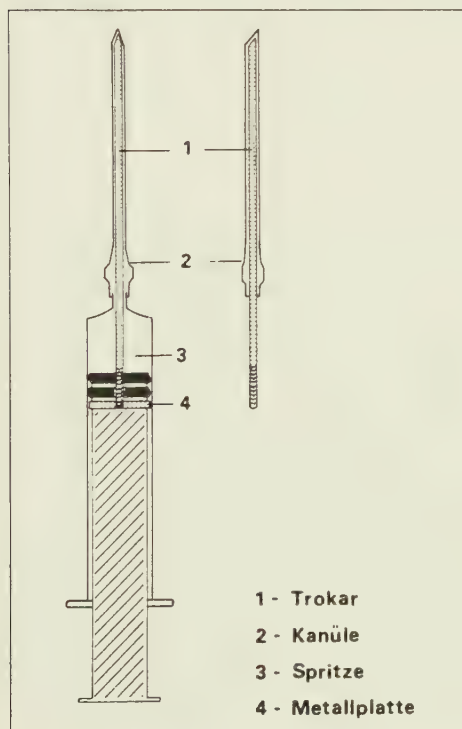


Abbildung 17. Nadel für die Fettbiopsie. Die Stahlkanüle wird unter Erzeugung eines Vakuums in das Fettgewebe vorgeschoben. Durch Drehen der Kanüle wird der Gewebezylinder geschnitten; modifiziert nach *Novak* und *Melichar* (141).

die schriftliche Einwilligung der Eltern eingeholt. Die Biopsie erfolgte in der Glutäalregion (rechter oberer Quadrant). Das Risiko des Eingriffs ist bei richtiger Technik nicht größer als das einer Blutentnahme. Das Gewicht des gewonnenen Biopsiematerials betrug 20 bis 60 mg. Zur Kontrolle wurden sechs Fettbiopsien in der gleichen Region bei erwachsenen Freiwilligen durchgeführt. Die Gewebeproben wurden nach der Biopsie kurz mit physiologischer Kochsalzlösung gespült, auf Filterpapier getrocknet und anschließend sofort in flüssigem Stickstoff eingefroren.

Zur Carnitinbestimmung wurden die gefrorenen Gewebeproben in 0,3 ml H₂O homogenisiert und zentrifugiert. 0,05 ml des Überstandes wurden zur Bestimmung des Proteingehalts entnommen. Der restliche Überstand wurde mit 0,6 ml 0,6 Mol/l Perchlorsäure versetzt und zentrifugiert. Der neue Überstand wurde mit KOH neutralisiert und säurelösliches Carnitin nach der Methode von *Cederblad* und *Lindstedt* (siehe 3.2) bestimmt. Zur Bestimmung des säureunlöslichen Carnitins wurde das Präzipitat mit 0,1 N KOH hydrolysiert und entstandenes freies Carnitin mit der gleichen Methode gemessen. Ein Teil der Perchlorsäureextrakte wurde nach *Marquis* und *Fritz* (siehe 3.1) gemessen. Dazu war es nötig, diese zu lyophilisieren, um ausreichende Carnitinkonzentrationen zu erreichen. Die Ergebnisse beider Methoden waren nicht signifikant unterschiedlich und wurden daher kombiniert. Die Proteinbestimmung im Homogenat erfolgte nach *Lowry* (142).

5.4.2 Ergebnisse und Kommentar

Nach 30 Lebensstunden kam es zu einem signifikanten Anstieg von säurelöslichem Carnitin sowohl bezogen auf das Feuchtgewicht als auch bezogen auf den Proteingehalt des Gewebes (Abbildung 18). Der Gehalt des Fettgewebes von Erwachsenen an säurelöslichem Carnitin war bezogen auf Protein wegen starker individueller Schwankungen zwar nicht signifikant unterschiedlich zu dem von Neugeborenen, jedoch im Mittel deutlich höher. Dies ist offenbar auf den niedrigeren Proteingehalt des Fettgewebes Erwachsener im Vergleich zu dem des Neugeborenen zurückzuführen.

Wie aus Abbildung 19 ersichtlich, stiegen auch die Konzentrationen von säureunlöslichem Carnitin im Fettgewebe des Neugeborenen nach 30 Lebensstunden signifikant an. Dieser Befund steht im Einklang mit dem nach der Geburt einsetzenden erhöhten Fettkatabolismus (siehe 1.5.1) und mit dem Anstieg der Aktivität der Carnitin-Palmityl-Transferase (CPT) im subkutanen Fettgewebe (siehe 5.5).

Die Akkumulation von Carnitin im Fettgewebe des Neugeborenen am 2. Lebenstag könnte mit der beginnenden exogenen Zufuhr von Carnitin mit der Milch zusammenhängen. Tierexperimentelle Untersuchungen weisen in diese

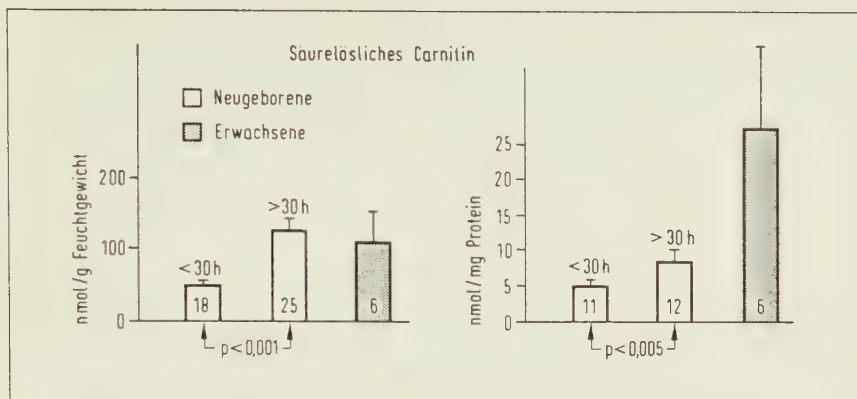


Abbildung 18. Konzentrationen von säurelöslichem Carnitin im subkutanen weißen Fettgewebe von reifen Neugeborenen und Erwachsenen. Die Säulen geben die Mittelwerte $\pm$ s der innerhalb der Säulen angegebenen Zahl der Untersuchungen an. Links: Carnitinkonzentrationen bezogen auf Feuchtgewicht, rechts: Carnitinkonzentrationen bezogen auf Proteingehalt.



Abbildung 19. Konzentrationen von säureunlöslichem Carnitin im subkutanen weißen Fettgewebe von reifen Neugeborenen und Erwachsenen. Die Säulen geben die Mittelwerte $\pm$ s der innerhalb der Säulen angegebenen Zahl der Untersuchungen an. Links: Carnitinkonzentrationen bezogen auf Feuchtgewicht, rechts: Carnitinkonzentrationen bezogen auf Proteingehalt.

Richtung (116, 143): Markiertes Carnitin gelangt aus der mütterlichen Blutbahn in die Milch und wird in Geweben der saugenden Jungen, vor allem in der Leber und im braunen Fettgewebe, wiedergefunden.

Bei Erwachsenen waren die Konzentrationen von säureunlöslichem Carnitin signifikant höher als beim Neugeborenen. Dies steht nicht im Einklang mit den meist niedrigen Aktivitäten der CPT im subkutanen Fettgewebe von Erwachsenen (siehe 5.5) und könnte auf funktionelle Unterschiede zwischen beiden Fettgewebstypen hinweisen.

5.5 Mitochondriale Carnitin-Palmityl-Transferase (CPT) im subkutanen Fettgewebe von Neugeborenen und Frühgeborenen

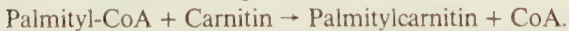
5.5.1 Material und Methoden

Bei 32 reifen Neugeborenen, vier Frühgeborenen und zwölf Erwachsenen wurde eine Fettbiopsie (siehe 5.4.1) durchgeführt. Die Gewebeproben wurden sofort in 0,25 Mol/l Saccharose, 0,05 Mol/l EDTA und 0,1 Mol/l TRIS-Puffer (pH = 7,5) gegeben, geschnitten und unter Kühlung homogenisiert. Das Homogenat wurde verdünnt und filtriert (Teflonfilter Millipore, 5 µm), um größere Zellpartikel zu entfernen. Das Filtrat wurde in einer gekühlten Ultrazentrifuge mit $12000 \times g$ für 15 Minuten zentrifugiert. Das mitochondrienhaltige Sediment wurde in 0,1 ml 0,1% Triton X-100-Lösung suspendiert und die Mitochondrien mit einem Sonikator aufgebrochen.

Zur Messung der CPT wurden zwei Methoden verwendet:

- a) 0,05 ml der Mitochondriensuspension wurden mit 0,1 ml Palmityl-CoA (0,96 mg/ml), 0,1 ml 1 Mol/l TRIS-Puffer, 0,025 ml 50 mMol/l EDTA, 0,1 ml D-L-Carnitin (20 mg/ml) und 0,025 ml 5,5-Dithio-2-nitrobenzoesäure (DTNB 4 mg/ml, pH 7,5) inkubiert (Endvolumen 1 ml, 37 °C). Der Leerwert enthielt kein Carnitin.

Die Reaktion läuft folgendermaßen ab:



Die Farbänderung erfolgt durch Komplexbildung von DTNB mit CoA und wird spektrophotometrisch gemessen.

- b) 0,05 ml der Mitochondriensuspension wurden mit $1,5 \mu\text{Mol } ^{14}\text{C-D, L-Carnitin}$, $0,15 \mu\text{Mol Palmityl-CoA}$, $20 \mu\text{Mol K}_3\text{PO}_4$ (pH 7,5) in einem Endvolumen von 0,15 ml für zehn Minuten bei 37 °C inkubiert. Die Reaktion wurde durch Zugabe von 0,05 ml konzentrierter HCl beendet. Das Reaktionsgemisch wurde mit 1,8 ml H₂O und 1 ml L-Butanol extrahiert und für fünf Minuten bei $1000 \times g$ zentrifugiert. Die Butanolphase wurde mit H₂O-gesättigtem Butanol gewaschen und die Radioaktivität in einem Szintillationsspektrophotometer gemessen.

Die Ergebnisse beider Methoden waren statistisch nicht signifikant unterschiedlich, wurden kombiniert und in nMol/min gebildetes Palmitylcarnitin/mg mitochondriales Protein angegeben. Da die Mitochondrien nicht intakt waren, wurden die Aktivitäten sowohl der CPT I als auch der CPT II gemessen.

5.5.2 Ergebnisse und Kommentar

Die Aktivität der CPT im subkutanen Fettgewebe reifer Neugeborener stieg nach 20 Lebensstunden an ($p < 0,001$) (Abbildung 20). Bei vier Frühgeborenen (32.-35. Schwangerschaftswoche) konnte ein solcher Anstieg nicht festgestellt werden.

Diese Ergebnisse lassen einige Spekulationen zu: Der Anstieg der CPT im Fettgewebe könnte durch die beginnende Nahrungszufuhr und/oder durch metabolische Adaptationsvorgänge am 1. Lebenstag hervorgerufen werden. Solche diätetisch und metabolisch bedingten Änderungen von Enzymaktivitäten wurden in Leber, Darm, weißem und braunem Fettgewebe von Ratten gezeigt (144). Der genaue Mechanismus dieser Änderungen ist unbekannt, aber Konzentrationsänderungen von Substraten wie etwa freie Fettsäuren oder Carnitin im Gewebe könnten dabei eine Rolle spielen. Bieber et al. (145) konnten einen deutlichen Anstieg der mitochondrialen CPT-Aktivität in der Leber von neugeborenen Ferkeln nach 24 Lebensstunden zeigen. Dieser Anstieg ging mit einem Anstieg der Carnitinkonzentration in der Leber einher und war weniger deutlich, wenn die

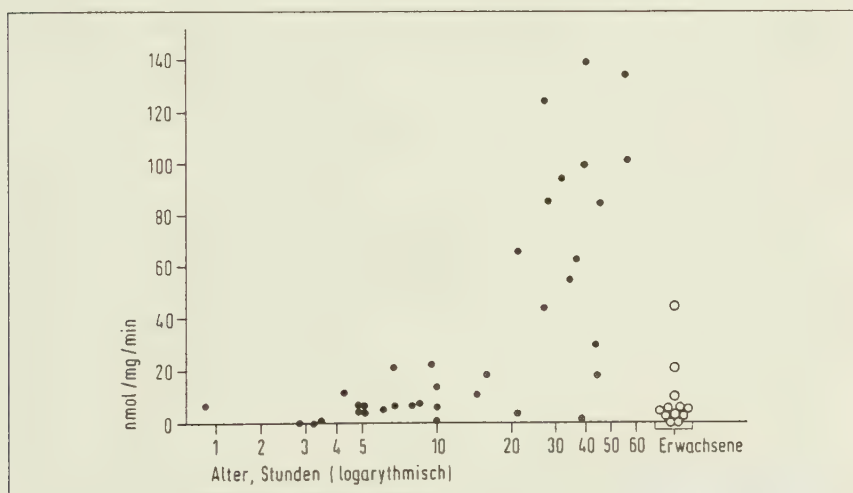


Abbildung 20. Aktivitäten der mitochondrialen CPT bei Neugeborenen (●), Frühgeborenen (⊗) und Erwachsenen (○) in Abhängigkeit vom Lebensalter.

Tiere keine Nahrung erhielten. Bei Ratten fanden *Augenfeld* et al. (146) nach der Geburt ebenfalls einen starken Anstieg der Leber-CPT. Obgleich es unzulässig ist, von Enzymaktivitäten im Fettgewebe auf solche in der Leber zu schließen, so wäre es doch immerhin denkbar, daß auch in der Leber des menschlichen Neugeborenen eine ähnliche Änderung der CPT-Aktivität nach der Geburt stattfindet. Bei Frühgeborenen könnte aufgrund der allgemeinen Unreife oder aber wegen verminderter Verfügbarkeit von Substraten der Anstieg der mitochondrialen CPT im Fettgewebe verzögert sein.

Im subkutanen Fettgewebe des Erwachsenen war die Aktivität der CPT bezogen auf mitochondriales Protein meist niedrig. Bedenkt man, daß das Fettgewebe des Erwachsenen wesentlich weniger Mitochondrien als das des Neugeborenen enthält (111), so ergibt sich eine noch niedrigere Aktivität bezogen auf Gewebsgewicht. Dies könnte dafür sprechen, daß das Fettgewebe des Erwachsenen eine geringere Kapazität zur Fettsäureoxidation hat als das Fettgewebe des Neugeborenen.

5.6 Die Wirkung des Carnitins auf Oxidation und Esterifizierung von ^{14}C -Palmitat in isolierten Fettzellen des Neugeborenen

5.6.1 Material und Methoden

Von sieben reifen Neugeborenen und vier Erwachsenen wurden Fettgewebeproben, wie unter 5.4.1 angegeben, gewonnen. Die Lösung der Zellen aus dem Gewebsverband erfolgte mittels Kollagenase. Da die meisten Kollagenase-Präparate auch eine Trypsin-ähnliche Aktivität aufweisen, wurde zum Schutze der Zellmembranen ein Trypsininhibitor (Ovomucoid) beigelegt.

Pro 10 mg Gewebe wurden 0,5 ml Krebs-Ringer-Bikarbonat-Puffer (pH 7,4), der 4% Rinder-Serumalbumin, 0,16% Kollagenase und 0,16% Ovomuroid enthielt, in eine silikonisierte Glasampulle gegeben. Das Gewebe wurde unter Begasung mit 5% CO_2 und 95% O_2 für 90 Minuten bei 37 °C im Schüttelbad inkubiert. Die so gewonnene Zellsuspension wurde mit Krebs-Ringer-Bikarbonat-Puffer und Albumin gewaschen und lichtmikroskopisch beurteilt (Abbildung 4). Je 0,25 ml gewaschener Zellsuspension wurden in drei Reagenzbehälter aus Nitrozellulose (Abbildung 21) überführt. Die mit einem Gummistopfen verschließbaren Behälter enthielten ein halboffenes inneres Gefäß, das eine Gelatine kapsel aufnahm. Diese konnte während des Schüttelns nicht mit Zellsuspension kontaminiert werden. Die Zellsuspensionen wurden mit Krebs-Ringer-Bikarbonat-Puffer (pH 7,4) und 4%igem Rinder-Serumalbumin mit 1 mMol/l U- ^{14}C -Palmitat (0,5 μCi) unter Luftabschluß im Schüttelbad bei 37 °C inkubiert. Eine Zellsuspension enthielt keine weiteren Zusätze, die zweite 1 mMol/l L-Carnitin, die dritte 1 mMol/l Deoxycarnitin, einen CPT-Inhibitor. Nach einer Inkubationszeit von 60 Minuten wurden durch den Gummistopfen 0,1 ml Phenäthylamin in abso-

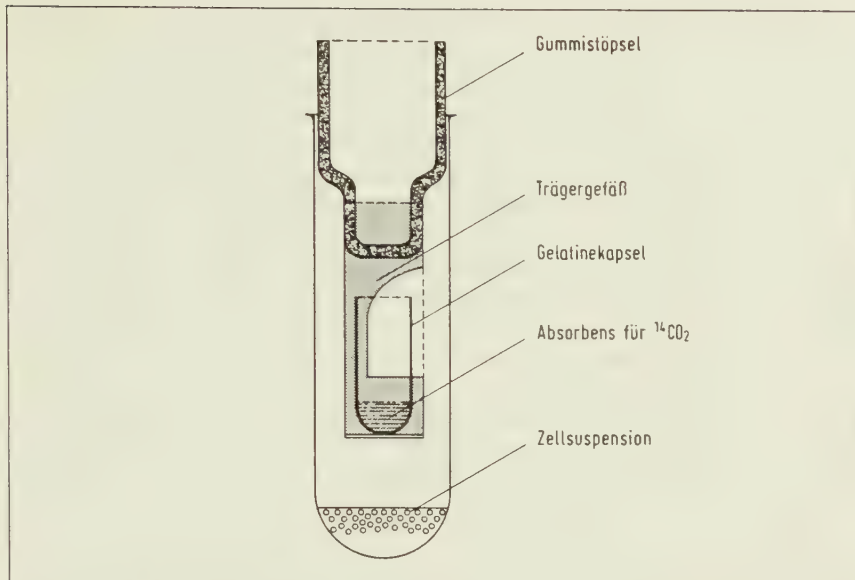


Abbildung 21. Reagenzbehälter zur Messung der CO_2 -Produktion einer Zellsuspension (Erläuterung siehe Text). Diese Abbildung wurde von M. Novak zur Verfügung gestellt.

lutem Methanol (1:1) zur Absorption von CO_2 in die Gelatinekapselfür und 0,25 ml 6n H_2SO_4 zur Unterbrechung der Reaktionen in die Zellsuspension injiziert. Während weiterer 60 Minuten wurde unter Schütteln das freigewordene CO_2 absorbiert. Danach wurde die Gelatinekapselfür mit Inhalt in ein Szintillationsgefäß gegeben und die Radioaktivität im Szintillationspektrophotometer gemessen.

Die Lipide wurden quantitativ aus der Zellsuspension mit Isopropanol-n-Hexan-1 n H_2SO_4 (40:10:1, v/v) extrahiert. Aus dem Lipidextrakt wurden

- nach Hydrolyse der Glyzeringehalt enzymatisch bestimmt (147),
- die Triglyzeride dünnschichtchromatographisch auf Kieselgelfolien in Äthyl-äther-Äthylazetat-n-Hexan (20:1:80, v/v) aufgetrennt. Die Triglyzeridflecken wurden mit Jod lokalisiert, direkt in einem Szintillationsgefäß mit Chloroform-n-Hexan (1:1, v/v) extrahiert, und die Radioaktivität gemessen. Die Ergebnisse wurden in counts pro Minute (cpm)/ μMol Glyzeridglyzerin angegeben.

5.6.2 Ergebnisse und Kommentar

Es ist seit langem bekannt, daß exogene, markierte Fettsäuren durch Fettgewebe in vitro sowohl oxidiert als auch esterifiziert werden können (148). Werden iso-

lierte Fettzellen inkubiert, kann man aufgrund der Untersuchungen von *Harper et al.* (151) davon ausgehen, daß der intrazelluläre Fettsäurepool markiert wird und dessen spezifische Aktivität der der Fettsäuren des Inkubationsmediums nahekommt. Dadurch wird die Oxidations- und Esterifizierungsrate von ^{14}C -Palmitat meßbar, wenn man annimmt, daß Fettsäureoxidation und -esterifizierung aus dem gleichen intrazellulären Pool von freien Fettsäuren erfolgt. Diese Annahme ist insofern berechtigt, als freie Fettsäuren sowohl für die Esterifizierung als auch für die Oxidation extramitochondrial aktiviert werden. Allerdings ist zu beachten, daß während der Inkubation eine Verdünnung des markierten Palmitats im Medium durch endogenes, von den Fettzellen freigesetztes, unmarkiertes Palmitat erfolgen kann. Dieser Verdünnungseffekt hängt von der initialen Konzentration der freien Fettsäuren in der Zelle und von der Lipolyserate ab. Beide sind in Fettzellen des Neugeborenen größer als in denen des Erwachsenen und führen zu einer Erniedrigung der spezifischen Aktivität von ^{14}C -Palmitat. Deshalb können die nach Inkubation gemessenen Radioaktivitäten von CO_2 und Triglyzeriden nur zwischen Proben der gleichen Zellsuspension, nicht aber zwischen unterschiedlichen Zellarten verglichen werden.

Aus Tabelle IX geht hervor, daß die Rate der Oxidation von ^{14}C -Palmitat in Fettzellen des Neugeborenen nach Zugabe von L-Carnitin in das Inkubationsmedium höher und nach Zugabe von Deoxycarnitin niedriger ist als ohne Zugabe dieser Substanzen. Diese Unterschiede wurden bei Fettzellen des Erwachsenen nicht beobachtet.

Tabelle IX. Inkorporation von U- ^{14}C -Palmitat in CO_2 und Triglyzeride von Fettzellen ($\bar{x} \pm s$) des subkutanen Fettgewebes Neugeborener und Erwachsener.

	Zugabe	Neugeborene	Erwachsene
In CO_2	keine	105 ± 21 (n = 7)	261 ± 127 (n = 4)
(cpm/ μMol	L-Carnitin	212 ± 28 (n = 6) ^a	217 ± 36 (n = 4)
Triglyzeride)	Deoxycarnitin	51 ± 12 (n = 6) ^{b, c}	
In Triglyzeride	keine	35 ± 6 (n = 7)	11 ± 4 (n = 4)
(cpm/nMol	L-Carnitin	57 ± 10 (n = 6) ^c	9 ± 3 (n = 4)
Triglyzeride)	Deoxycarnitin	21 ± 4 (n = 6)	

^ap < 0,05 verglichen mit keine Zugabe

^bp < 0,02 verglichen mit Carnitinzugabe

^cp < verglichen mit keiner Zugabe

Die Ergebnisse zeigen, daß im weißen Fettgewebe des Neugeborenen eine Carnitin-abhängige Fettsäureoxidation stattfindet. Sie stehen im Einklang mit früheren Untersuchungen von *Novak et al.* (112) über den O_2 -Verbrauch von Fettzel-

len des Neugeborenen (siehe 1.5.2). Fettzellen des Erwachsenen reagieren auf Carnitinzugabe nicht mit erhöhter Oxidationsrate. Dies könnte darauf hinweisen, daß in Fettzellen des Erwachsenen die Carnitin-abhängige Fettsäureoxidation eine geringere Bedeutung hat als in denen des Neugeborenen.

Die Rate der Esterifizierung von ^{14}C -Palmitat war nach Carnitinzugabe in den Fettzellen des Neugeborenen erhöht (Tabelle IX). Dies ist ein überraschendes Ergebnis. Wahrscheinlich handelt es sich um eine indirekte Wirkung von Carnitin. *Novak et al.* (150) fanden, daß auch die Lipolyse im Fettgewebe des Neugeborenen nach Carnitinzugabe gesteigert ist. Die vermehrte Freisetzung von Fettsäuren durch Lipolyse könnte sekundär zu einer erhöhten Esterifizierungsrate von freien Fettsäuren führen.

Setzt man die basale Inkorporationsrate von ^{14}C -Palmitat in CO_2 und Triglyzeride zueinander in ein Verhältnis, so ergibt sich bei Fettzellen des Erwachsenen eine etwa 40mal höhere Esterifizierungs- als Oxidationsrate. Dies stimmt etwa mit den Ergebnissen von *Harper et al.* (151) an epididymalen Fettzellen der Ratte überein. Bei Fettzellen des Neugeborenen hingegen finden wir ein molares Verhältnis Esterifizierung zu Oxidation von 350:1. Diese im Vergleich zur Oxidation wesentlich höhere Esterifizierungsrate könnte Folge einer vermehrten Freisetzung von freien Fettsäuren im Fettgewebe des Neugeborenen sein. Da die oxidative Kapazität begrenzt ist, werden freie Fettsäuren überwiegend re-esterifiziert.

5.7 Carnitinkonzentration in der Milch

5.7.1 Material und Methoden

48 Milchproben von 23 Müttern in verschiedenen Stadien der Laktation und 25 Proben von 14 verschiedenen Milchpräparaten wurden untersucht. Die Proben wurden hydrolysiert und Gesamtcarnitin, wie unter 3.3 beschrieben, gemessen.

5.7.2 Ergebnisse und Kommentar

Wie aus Abbildung 22 hervorgeht, nimmt der Carnitingehalt der Frauenmilch in der ersten Woche post partum zu, fällt dann zum Ende des 1. Monats auf die Werte unmittelbar post partum ab und bleibt dann bis zum Ende der Laktation konstant. In einer neueren Arbeit haben *Sandore et al.* (152) zwar einen Abfall der Carnitinspiegel nach drei Wochen Laktation bestätigen können, jedoch waren ihre Werte während der ersten drei Tage post partum deutlich höher als unsere (61,6–69,8 nMol/ml). Diese Diskrepanz bleibt ungeklärt.

Anstieg und Abfall der Carnitinkonzentrationen in der Muttermilch während der Laktation lassen sich nicht durch Änderung der mütterlichen Carnitinkonzentra-

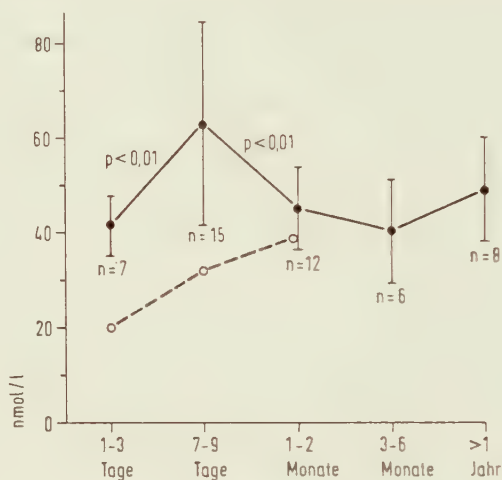


Abbildung 22. Konzentrationen von Gesamtcarnitin (●—●, $\bar{x} \pm s$) in der Muttermilch in Abhängigkeit von der Dauer der Laktation. Zum Vergleich (nach Tabelle I und Sandor et al.) die mittleren Konzentrationen von Gesamtcarnitin im mütterlichen Blut post partum (○—○).

Tabelle X. Konzentration von Gesamtcarnitin (nMol/ml) in verschiedenen Milchpräparaten.

Kuhmilchbasis

Similac	60- 90	(n = 5)
SMA	170-230	(n = 2)
Enfamil	50- 80	(n = 4)
Nutramigen	75	(n = 1)
Humana O	174	(n = 1)
Humana I	204	(n = 1)
Nan	231	(n = 1)

Sojamilchbasis

Cho-Free	0	(n = 2)
Pro-So-Be	0	(n = 1)
Nur-Soy	0	(n = 2)
Neo-Mull-Soy	0	(n = 1)
Isomil	0	(n = 1)
Multival plus	0	(n = 1)

tionen im Serum erklären, denn diese sind bei der Geburt niedrig (vergleiche Tabelle I), steigen innerhalb der ersten drei Wochen post partum kontinuierlich auf Normalwerte an (152), sind aber in diesem Zeitraum deutlich niedriger als die entsprechenden Carnitinkonzentrationen in der Muttermilch (Abbildung 22). Dies ist wohl Ausdruck einer aktiven Sekretion von Carnitin durch die Brustdrüse während der ersten Wochen der Laktation. Der Anstieg des Carnitingehaltes der Muttermilch fällt zeitlich mit einer Periode der verstärkten Ketogenese des Neugeborenen zusammen (siehe 1.5.1). Ob hier allerdings ein ursächlicher Zusammenhang besteht, ist nicht bewiesen.

Wie aus Tabelle X ersichtlich, war die Carnitinkonzentration in Kuhmilchpräparaten teilweise deutlich höher als in der Muttermilch, während in keinem der Sojamilchpräparate Carnitin nachweisbar war. Inzwischen sind diese Ergebnisse von mehreren Autoren bestätigt worden (152–154). Die höheren Carnitinkonzentrationen in den Kuhmilchpräparaten sind insofern interessant, als *Warshaw* et al. (154) fanden, daß Carnitin-Blutspiegel bei mit Muttermilch ernährten Neugeborenen höher sind als bei mit Kuhmilchpräparaten ernährten Säuglingen. Dies erklären die Autoren mit einer besseren Bioverfügbarkeit von Carnitin in der Muttermilch, was allerdings bisher noch nicht näher untersucht wurde. Das Fehlen von Carnitin in Sojamilchpräparaten gab inzwischen Anlaß zu weiterführenden Untersuchungen über Carnitinmangel bei mit Sojamilch ernährten Säuglingen (128) und über die mögliche Notwendigkeit einer Substitution dieser Präparate mit Carnitin (155).

5.8 Carnitin-Blutspiegel und Urinausscheidung bei parenteral und enteral ernährten Frühgeborenen

5.8.1 Patienten und Methoden

Zwölf eutrophe Frühgeborene, die aufgrund klinischer Indikation in den ersten fünf Lebenstagen fast vollständig parenteral ernährt wurden (Gruppe A) und acht Frühgeborene, die mit Muttermilch oder Kuhmilchpräparaten ab dem 2. Lebenstag gefüttert werden konnten (Gruppe B), wurden untersucht. Die parenterale Ernährung bestand aus Glukose, Aminosäuren (einschließlich Lysin und Methionin), Fettemulsion, Elektrolyten und Vitaminen. Alle Infusionslösungen wurden auf ihren Carnitingehalt untersucht. Keine dieser Lösungen enthielt meßbare Mengen von Carnitin. Die Frühgeborenen der Gruppe A wurden etwa vom 6. Lebenstag an mit ansteigenden Mengen Milch gefüttert.

Die Patientengruppen waren bezüglich Gestationsalter (32. bis 35. Schwangerschaftswoche) und Geburtsgewicht (1500–2300 g) nicht unterschiedlich. Die klinischen Diagnosen lauteten: Hyaline-Membranen-Krankheit, Anpassungsstörung, perinatale Asphyxie, Aspiration, Pneumonie, Apnoe-Anfälle, Hyperbilirubinämie. Die Frühgeborenen der Gruppe A waren generell in einem schlechte-

ren klinischen Zustand als die der Gruppe B und benötigten häufiger und länger eine Beatmung oder Atemhilfe. Am 5. Lebenstag war die Kalorienzufuhr bei den Frühgeborenen der Gruppe A niedriger als bei denen der Gruppe B, nicht aber im Alter von 10 bis 17 Tagen (Tabelle XI). Die Carnitinzufuhr wurde aus dem Carnitingehalt der jeweils gefütterten Milch berechnet. Frühgeborene der Gruppe A hatten im Gegensatz zu denen der Gruppe B bis zum 5. Lebenstag nur minimale Carnitinmengen erhalten (Tabelle XI). Am 1., 5. und 10. bis 17. Lebenstag wurde je eine venöse Blutprobe entnommen. Zum Zeitpunkt der 3. Blutentnahme hatten alle Kinder mindestens sieben Tage lang Carnitin-haltige Milch erhalten. Um mögliche akute Veränderungen der Carnitinspiegel durch Carnitinzufuhr oder Fettzufuhr zu umgehen, wurden alle Blutproben kurz vor einer Fettinfusion bzw. einer oralen Fütterung abgenommen. Um die Zeitpunkte der Blutentnahmen herum wurde bei 14 Frühgeborenen 24-Stunden-Urin gesammelt.

Blut- und Urinproben wurden zentrifugiert und bis zur Analyse bei minus 28 °C eingefroren. Gesamtcarnitin, freies Carnitin und Azylcarnitin wurden, wie unter 3.3 beschrieben, bestimmt.

Tabelle XI. Kalorienzufuhr und Carnitinzufuhr (seit Geburt) bei zwei Gruppen von Frühgeborenen: Gruppe A: parenteral ernährt; Gruppe B: oral ernährt ($\bar{x} \pm s$).

	5. Lebenstag		10.-17. Lebenstag	
	Kalorien, kcal/kg · d	Carnitin, μMol/kg	Kalorien, kcal/kg · d	Carnitin, μMol/kg
Gruppe A	76,8 ± 20,8	3,3 ± 5,1	134,4 ± 20,2	205,6 ± 82,4
Gruppe B	101,1 ± 14,0	67,2 ± 14,3	142,4 ± 10,8	336,0 ± 66,4
p <	0,01	0,01	n.s.	0,01

n.s. = nicht signifikant

5.8.2 Ergebnisse und Kommentar

Abbildung 23 zeigt die Änderung der Gesamtcarnitinspiegel im Serum bei den einzelnen untersuchten Kindern der Gruppe A. Die Carnitinspiegel fielen nach fünf Tagen Carnitin-freier parenteraler Ernährung ab ($p < 0,01$). Nach mindestens sieben Tagen Ernährung mit Milch waren die Serumkonzentrationen wieder angestiegen ($p < 0,01$).

Im Vergleich dazu zeigte die Kontrollgruppe B (schraffiertes Feld) keine Änderungen der Carnitin-Blutspiegel zwischen dem 1. und 5. Lebenstag, jedoch einen Anstieg am 10. bis 17. Lebenstag ($p < 0,05$). Die Frühgeborenen der Gruppe A hatten niedrigere Carnitinwerte ($p < 0,01$) am 5. Lebenstag und auch am 10. bis 17. Lebenstag als die Frühgeborenen der Gruppe B. In Tabelle XII sind die Werte für Gesamtcarnitin, freies Carnitin und Azylcarnitin im Serum für beide Gruppen während des Verlaufs der Studie aufgeführt.

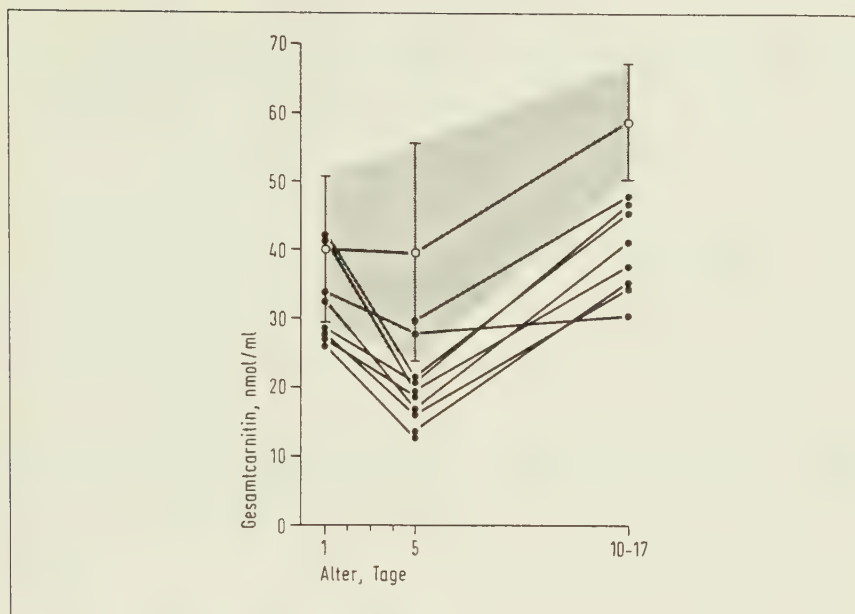


Abbildung 23. Konzentrationen von Gesamtcarnitin im Serum von einzelnen Frühgeborenen, die ab Geburt mindestens fünf Tage lang parenteral ernährt wurden (Gruppe A, ●—●), und von oral ernährten Frühgeborenen (Gruppe B, ○—○, $\bar{x} \pm s$) in Abhängigkeit vom Lebensalter. Die schraffierte Fläche gibt den Bereich der Standardabweichung für Gruppe B wieder.

Die Blutkonzentrationen von freiem Carnitin änderten sich in ähnlicher Weise wie die von Gesamtcarnitin. Die Konzentrationen von Azylcarnitin änderten sich im Verlauf der Untersuchung bei beiden Gruppen nicht, jedoch waren sie zu jedem Zeitpunkt niedriger bei Frühgeborenen der Gruppe A als bei denen der Gruppe B.

Ein Abfall von Carnitin-Blutspiegeln während parenteraler Ernährung wurde auch von Schiff et al. (156) und Novak et al. (157) gefunden. Schiff et al. (156) verglichen bei einer heterogenen Gruppe von Frühgeborenen und Neugeborenen (800 bis 4300 g) Carnitinspiegel unter anfänglicher intravenöser Ernährung mit denen nach Beginn oraler Ernährung. Sie fanden bei parenteraler Ernährung niedrigere Spiegel von Gesamtcarnitin, freiem Carnitin und Azylcarnitin als bei nachfolgender oraler Ernährung. Diese Daten sind nicht eindeutig zu interpretieren, da die Carnitin-Serumspiegel u. a. auch vom Lebensalter abhängen. Die Autoren konnten aber bei einem Frühgeborenen, das phasenweise parenteral und oral ernährt wurde, eine Abhängigkeit des Carnitin-Blutspiegels von der Art der Ernährung zeigen. Novak et al. (157) fanden eine Abnahme der Gesamtcarnitin-

Tabelle XVII. Carnitin-Serumspiegel ($\bar{x} \pm s$) von Frühgeborenen, die während der ersten fünf Lebensstage total parenteral ernährt wurden (Gruppe A) verglichen mit denen von Frühgeborenen, die oral ernährt wurden (Gruppe B).

		Freies Carnitin, nMol/ml		Azylcarnitin, nMol/ml	
		1. Tag	5. Tag	1. Tag	5. Tag
Gruppe A (n)		21,7 $\pm$ 4,5 (8)	10,2 $\pm$ 2,7 ^a (10)	10,9 $\pm$ 4,7 (8)	9,2 $\pm$ 4,5 (10)
Gruppe B (n)		19,2 $\pm$ 7,1 (7)	18,7 $\pm$ 6,0 (7)	20,8 $\pm$ 7,7 (7)	20,9 $\pm$ 11,1 (7)
p		n.s.	< 0,01	< 0,01	< 0,01

^ap < 0,01 verglichen mit der gleichen Gruppe am 1. Lebenstag
^bp < 0,01 verglichen mit der gleichen Gruppe am 5. Lebenstag
n.s. = nicht signifikant

Tabelle XVIII. Carnitinausscheidung ($\bar{x} \pm s$) von Frühgeborenen, die während der ersten fünf Lebensstage parenteral und danach oral ernährt wurden.

		Gesamtcarnitin		Freies Carnitin		Azylcarnitin	
	n	$\mu\text{Mol/m}^2 \cdot 24 \text{ h}$	nMol/mg Kreatinin	$\mu\text{Mol/m}^2 \cdot 24 \text{ h}$	nMol/mg Kreatinin	$\mu\text{Mol/m}^2 \cdot 24 \text{ h}$	nMol/mg Kreatinin
1. Tag	10	5,7 $\pm$ 4,1 ^a	96,8 $\pm$ 105,6 ^a	2,5 $\pm$ 1,7 ^a	39,8 $\pm$ 34,3 ^a	3,2 $\pm$ 2,9 ^b	57,0 $\pm$ 76,5 ^a
5. Tag	10	1,8 $\pm$ 3,2	12,6 $\pm$ 23,6	0,7 $\pm$ 1,1	11,4 $\pm$ 5,0	1,1 $\pm$ 2,1	8,1 $\pm$ 16,0
10.-17. Tag	5 ^c	37,2 $\pm$ 20,6 ^a	675,8 $\pm$ 459,4 ^a	28,6 $\pm$ 19,1 ^a	482,4 $\pm$ 307,5 ^a	9,0 $\pm$ 10,1	193,4 $\pm$ 231,2 ^b

n.s. = nicht signifikant

^ap < 0,01 verglichen mit 5. Tag

^bp < 0,05 verglichen mit 5. Tag

^c 3 Frühgeborene, die vom 1. Lebenstag an oral ernährt wurden, eingeschlossen.

spiegel im Serum von Frühgeborenen bereits nach drei Tagen intravenöser Ernährung mit Glukose. Als Kontrollgruppe dienten allerdings nicht Frühgeborene gleichen Gestationsalters, sondern oral ernährte reife Neugeborene, die im gleichen Zeitabschnitt einen Anstieg der Carnitin-Serumspiegel zeigten.

Aus diesen beiden Studien und unserer eigenen Studie lassen sich folgende Ergebnisse zusammenfassend festhalten:

1. Carnitin-Plasmakonzentrationen von parenteral ernährten Frühgeborenen fallen trotz Zufuhr der Aminosäurevorstufen der Carnitinsynthese ab.
2. Carnitin-Plasmakonzentrationen von parenteral ernährten Frühgeborenen sind niedriger als die von oral ernährten Frühgeborenen gleichen Gestations- und Lebensalters.
3. Carnitin-Plasmakonzentrationen von parenteral ernährten Frühgeborenen steigen nach Beginn der oralen Ernährung an.

Die niedrigeren Plasmakonzentrationen von Azylcarnitin bei parenteral ernährten Frühgeborenen im Vergleich zu den oral ernährten Frühgeborenen könnten für eine niedrigere Fettsäureoxidationsrate sprechen. Zwar war das Verhältnis

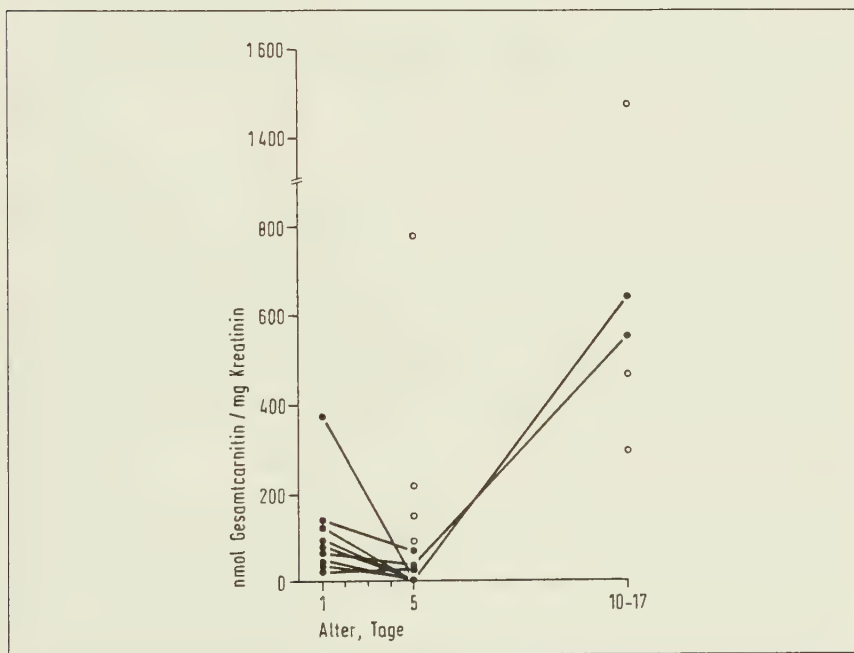


Abbildung 24. Ausscheidung von Gesamtcarnitin bei Frühgeborenen, die ab Geburt mindestens fünf Tage lang parenteral ernährt wurden (Gruppe A, ●—●) und von oral ernährten Frühgeborenen (Gruppe B, ○) in Abhängigkeit vom Lebensalter.

von Azylcarnitin zu freiem Carnitin im Plasma am 5. Tag in beiden Gruppen etwa gleich (um 1), aber am 10. bis 17. Lebenstag war dieses Verhältnis bei der Gruppe A deutlich niedriger (etwa 0,3) als bei der Kontrollgruppe B (um 1). Dies könnte darauf hindeuten, daß sich zu diesem Zeitpunkt bei Gruppe A die Blutspiegel von freiem Carnitin zwar normalisiert hatten, die Fettsäureoxidation aber noch vermindert war.

Die Ausscheidung von Gesamtcarnitin sank bei allen parenteral ernährten Frühgeborenen der Gruppe A nach fünf Tagen ab und war niedriger als bei vier oral ernährten Frühgeborenen der Gruppe B (Abbildung 24). Sieben der zehn untersuchten Frühgeborenen der Gruppe A hatten am 5. Lebenstag eine in unserem Labor nicht mehr sicher meßbare Carnitinkonzentration im Urin ($< 2 \text{ nMol/ml}$). Nach Beginn der oralen Ernährung stieg die Carnitinausscheidung bei den zwei untersuchten Frühgeborenen der Gruppe A steil an und erreichte am 10. bis 17. Lebenstag Werte, die mit denen der Gruppe B vergleichbar waren. Tabelle XIII zeigt die Ausscheidung von Gesamtcarnitin, freiem Carnitin und Azylcarnitin von Frühgeborenen der Gruppe A. Um für mögliche Verluste von Urin bei der 24-Stunden-Sammlung und um für die in der Neonatalperiode ansteigende glomeruläre Filtrationsrate zu kompensieren, wurden die Daten nicht nur in $\mu\text{Mol/m}^2 \times 24 \text{ Stunden}$ angegeben, sondern auch auf die Kreatininausscheidung bezogen. In jedem Fall fand sich sowohl für freies Carnitin als auch für Azylcarnitin eine signifikante Abnahme der Urinausscheidung am 5. Tag der Carnitin-freien parenteralen Ernährung und ein signifikanter Anstieg nach Beginn der oralen Nahrungszufuhr.

Diese Ergebnisse zeigen, daß die Niere des Frühgeborenen in der Lage ist, im Zustand eines Carnitinmangels Carnitin für den Organismus zu konservieren. Zwar liegen in der Literatur keine weiteren Untersuchungen über die Carnitinausscheidung bei parenteral ernährten Frühgeborenen vor, jedoch wurde eine verminderte Carnitinausscheidung bei Erwachsenen während totaler parenteraler Ernährung beschrieben (158). Diese geht allerdings nur um etwa 50% zurück und ist bedeutend höher ($60 \text{ bis } 80 \mu\text{Mol/m}^2 \times 24 \text{ Stunden}$) als bei unseren Frühgeborenen. Unter der Annahme, daß die Carnitinausscheidung unter parenteraler Ernährung die endogene Carnitinsyntheserate reflektiert, könnte man daraus schließen, daß diese bei Frühgeborenen unvergleichlich niedriger ist als bei Erwachsenen.

5.9 Carnitin-Gewebekonzentrationen von Neu- und Frühgeborenen

5.9.1 Patienten und Methoden

Bei 28 Frühgeborenen und 16 reifen Neugeborenen, die entweder am 1. Lebenstag oder nach dem 10. Lebenstag gestorben waren, wurden Carnitin-Gewebespiegel gemessen. Am 1. Lebenstag waren noch keine nennenswerten Mengen

von oraler Nahrung gegeben worden. Die über zehn Tage alten Neu- und Frühgeborenen hatten entweder weitgehend Carnitin-freie parenterale Ernährung (Carnitinzufuhr $< 0,5 \mu\text{Mol/kg KG} \cdot \text{Tag}$) oder Carnitin-haltige orale Ernährung (Carnitinzufuhr $> 8 \mu\text{Mol/kg KG} \cdot \text{Tag}$) erhalten. Ein parenteral ernährtes und mit Carnitin supplementiertes ($10 \text{ mg L-Carnitin/kg} \cdot \text{Tag i.v.}$) Frühgeborenes wurde in die Gruppe der oral Ernährten hineingenommen. Die orale Ernährung bestand aus Muttermilch oder adaptierten Kuhmilchpräparaten. Die parenterale Ernährung war, wie unter 5.8.1 beschrieben, zusammengesetzt. Die Diagnosen lauteten: kongenitale Mißbildung, perinatale Asphyxie, Hyaline-Membranen-Krankheit, Sepsis, Darmperforation, intrakranielle Blutung.

Bei der Autopsie wurden innerhalb von 72 Stunden nach dem Tode Proben von Leber, M. psoas, Niere und Herz (linke Herzkammer) entnommen und eingefroren. Um auszuschließen, daß Änderungen der Gewebekonzentrationen von Gesamtcarnitin postmortal eintreten, wurden in einem Tierversuch mit Meer-schweinchen entsprechende Gewebeproben sofort, 24, 48 und 72 Stunden nach Tötung der Versuchstiere auf ihren Gehalt an säurelöslichem Carnitin analysiert. Dabei wurden in den einzelnen Organen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Konzentrationen festgestellt.

Die Gewebeproben wurden mit einem Potter-Elvehjem-Homogenisator in H_2O homogenisiert, mit $0,6 \text{ Mol/l}$ Perchlorsäure präzipitiert, zentrifugiert, der Überstand mit $0,45 \text{ N KOH}$ für 1 Stunde bei 37°C hydrolysiert und mit HCl neutralisiert. Säurelösliches Gesamtcarnitin wurde, wie unter 3.3 beschrieben, gemessen.

5.9.2 Ergebnisse und Kommentar

Frühgeborene (25. bis 35. SSW), die länger als zehn Tage parenteral ernährt wurden, hatten niedrigere Carnitinkonzentrationen in Leber, Niere und Herz als einen Tag alte Frühgeborene und niedrigere Carnitinkonzentrationen in Leber und Herz als oral bzw. mit Carnitin ernährte Frühgeborene (Tabelle XIV). Im Skelettmuskel waren die Carnitinkonzentrationen von parenteral ernährten Frühgeborenen nicht niedriger als die von einem Tag alten Frühgeborenen und nicht signifikant niedriger als die von oral ernährten Frühgeborenen. Letztere hatten aber höhere Carnitinkonzentrationen im Skelettmuskel als einen Tag alte Frühgeborene.

Reife Neugeborene (38. bis 42. SSW) hatten am 1. Lebenstag höhere Carnitinkonzentrationen in Muskel, Niere und Herz als einen Tag alte Frühgeborene. Reife Neugeborene, die länger als zehn Tage oral ernährt wurden, hatten höhere Carnitinkonzentrationen in Leber und Muskel als solche, die nur einen Tag lebten.

Diese Zahlen zeigen, daß Carnitin-Gewebekonzentrationen vom Gestationsalter, vom chronologischen Alter und von der Art der Ernährung abhängen, wobei nicht alle Gewebe in gleicher Weise von diesen Faktoren betroffen sind. In Leber

und Herz von Frühgeborenen ist eine eindeutige Abhängigkeit der Carnitinkonzentration von der exogenen Carnitinzufuhr festzustellen, während der Skelettmuskel auch bei Carnitin-freier Ernährung seinen Carnitinspiegel aufrecht erhält. Dies mag damit zusammenhängen, daß die Umsatzrate von Carnitin im Skelettmuskel niedriger ist als in anderen Organen (159).

Eine Abhängigkeit der Carnitin-Gewebekonzentrationen vom Gestationsalter ist für Muskel, Niere und Herz, nicht aber für die Leber nachweisbar. Andere Faktoren, wie z. B. Dauer und Art der Erkrankung sowie präfinale Hypoxie und Azidose, ließen sich in ihrer möglichen Auswirkung auf Carnitin-Gewebespiegel nicht näher untersuchen.

Bisher sind keine weiteren Daten über Carnitin-Gewebekonzentrationen beim menschlichen Neu- und Frühgeborenen bekannt geworden. Die Ergebnisse unserer Messungen an Neu- und Frühgeborenen am 1. Lebenstag lassen den Schluß zu, daß die meisten fetalen Gewebe Carnitin intrauterin in ansteigendem Maße speichern. Nach der Geburt werden die Carnitinspeicher offenbar mit Ausnahme der Muskulatur bei fehlender exogener Carnitinzufuhr entleert. Dadurch wird ein niedriger Carnitin-Plasmaspiegel aufrecht erhalten. Die Rate der endogenen Biosynthese scheint bei Frühgeborenen nicht ausreichend zu sein, um den Abfall der Carnitinkonzentrationen in Leber, Niere, Herz und Plasma bei Carnitin-freier Ernährung zu verhindern.

Tabelle XIV. Gewebekonzentrationen ($\bar{x} \pm s$) von säurelöslichem Carnitin bei Neugeborenen (38. bis 42. SSW) und Frühgeborenen (25. bis 35. SSW), die Carnitin-freie parenterale Ernährung (– Carnitin) und Carnitin-haltige orale oder parenterale Ernährung (+ Carnitin) erhielten.

Alter	n	Konzentration, $\mu\text{Mol/g}$ Feuchtgewicht			
		Leber	Muskel	Niere	Herz
<i>Frühgeborene</i>					
< 24 h	17	$0,39 \pm 0,15$	$0,81 \pm 0,27^a$	$0,31 \pm 0,08^a$	$0,37 \pm 0,11^a$
> 10 Tage					
– Carnitin	7	$0,19 \pm 0,10^{b, c}$	$0,89 \pm 0,11$	$0,18 \pm 0,05^b$	$0,19 \pm 0,05^{b, d}$
> 10 Tage					
+ Carnitin	4	$0,64 \pm 0,21$	$1,52 \pm 0,66^c$	$0,34 \pm 0,17$	$0,45 \pm 0,11$
<i>Reife Neugeborene</i>					
< 24 h	8	$0,47 \pm 0,18$	$1,49 \pm 0,97$	$0,51 \pm 0,19$	$0,77 \pm 0,27$
> 10 Tage					
+ Carnitin	8	$0,74 \pm 0,25^a$	$2,33 \pm 0,49^a$	$0,38 \pm 0,07$	$0,41 \pm 0,18$

^a $p < 0,05$ verglichen mit reifen Neugeborenen < 24 h

^b $p < 0,01$ verglichen mit Frühgeborenen < 24 h

^c $p < 0,05$ verglichen mit Frühgeborenen > 10 Tage + Carnitin

^d $p < 0,01$ verglichen mit Frühgeborenen > 10 Tage + Carnitin

^e $p < 0,05$ verglichen mit Frühgeborenen < 24 h

5.10 Zusammenhänge zwischen Carnitinzufuhr, Carnitin-Blutspiegeln und der Fettsäureoxidation bei parenteral ernährten Frühgeborenen

5.10.1 Patienten und Methoden

26 eutrophe Frühgeborene mit einem mittleren Gestationsalter von 33 Schwangerschaftswochen (27–36 SSW) und einem mittleren Geburtsgewicht von 1740 g (1050–2490 g) erhielten aus klinischer Indikation ganz oder teilweise parenterale Ernährung, die, wie unter 5.8 beschrieben, zusammengesetzt war. Die Diagnosen lauteten: Hyaline-Membranen-Krankheit, perinatale Asphyxie, persistierender offener Ductus Botalli, vorübergehende Atemstörungen, Apnoe, Mekoniumpfropfsyndrom. Frühgeborene mit ausgeprägter Hyperbilirubinämie, angeborenen Stoffwechselerkrankungen, Sepsis und schwerer intrakranieller Blutung wurden von der Studie ausgeschlossen. Alle Frühgeborenen wurden in einem Inkubator bei Neutraltemperatur gepflegt (Abbildung 25). Zwischen dem 5. und 27. Lebenstag (Mittel: 10. Lebenstag), als die Frühgeborenen klinisch in einem stabilen Zustand waren, wurde ein Fett-Toleranztest durchgeführt. Venöse Blutproben (etwa 1,5 ml) wurden vor und am Ende einer 4stündigen kontinuierlichen

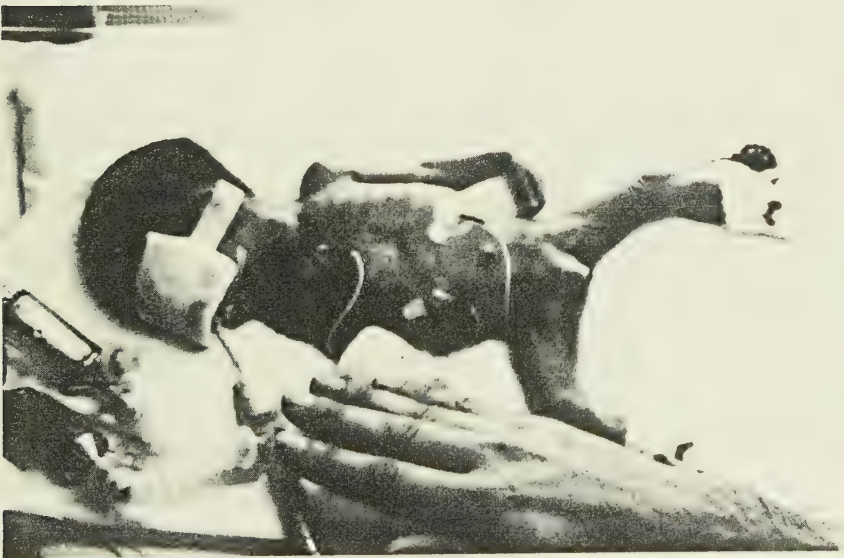


Abbildung 25. Nasal intubiertes, beatmetes Frühgeborenes der 30. Schwangerschaftswoche: Zum Zwecke der intravenösen Ernährung wurde ein feiner Katheter durch eine in die Kubitalvene eingeführte »Butterfly-Kanüle« in die Vena cava sup. vorgeschoben. Die Maske schützt die Augen vor den Einwirkungen der Phototherapie (Photo: J. Bauer).

Infusion von 10 ml/kg 10% Intralipid® entnommen. Frühgeborene, die teilweise mit Muttermilch oder einem Milchpräparat gefüttert wurden, erhielten ihre letzte Mahlzeit mindestens drei Stunden vor der Infusion. Während der 4stündigen Fettinfusion wurde keine zusätzliche Infusionslösung gegeben. Es erfolgte eine engmaschige Kontrolle des Blutzuckers (Dextrostix). Die Blutproben wurden sofort auf Eis gestellt, zentrifugiert, das Plasma in geeignete Portionen aufgeteilt und bei -28°C bis zur Analyse eingefroren. Folgende Messungen wurden durchgeführt:

Gesamtcarnitin, freies Carnitin, Azylcarnitin, wie unter 3.3 beschrieben, β -Hydroxybutyrat, wie unter 5.1 beschrieben, freie Fettsäuren mit der colorimetrischen Methode von Novak (162), Triglyzeride nach Extraktion (mit Dole-Mischung) und Hydrolyse mittels der enzymatischen Glycerinbestimmung (147). Die durchschnittliche Carnitinzufuhr seit Geburt wurde aus der Gesamtcarnitinkonzentration und der Menge der gefütterten Milch sowie der Dauer der oralen Ernährung errechnet und in $\mu\text{Mol Carnitin/kg KG} \times 24$ Stunden ausgedrückt.

5.10.2 Ergebnisse und Kommentar

Tabelle XV zeigt die Meßergebnisse vor und nach der Fettinfusion. Es fand sich ein Anstieg der Plasmakonzentrationen von Azylcarnitin, β -Hydroxybutyrat, freien Fettsäuren und Triglyzeriden, ein Abfall von freiem Carnitin und keine Änderung des Gesamtcarnitins.

Tabelle XV. Gesamtcarnitin (TC), freies Carnitin (FC), Azylcarnitin (AC), β -Hydroxybutyrat (β OHB), freie Fettsäuren (FFS) und Triglyzeride (TG) bei Frühgeborenen vor und am Ende einer 4stündigen Fettinfusion ($\bar{x} \pm s$).

	n	Vor Fettinfusion	Nach Fettinfusion	p <
TC, $\mu\text{Mol/l}$	26	19,2 $\pm$ 7,2	19,7 $\pm$ 6,4	n.s.
FC, $\mu\text{Mol/l}$	26	14,0 $\pm$ 5,2	11,7 $\pm$ 6,4	0,001
AC, $\mu\text{Mol/l}$	26	5,2 $\pm$ 2,9	8,0 $\pm$ 3,0	0,001
β OHB, mMol/l	23	0,034 $\pm$ 0,017	0,291 $\pm$ 0,253	0,001
FFS, mMol/l	22	0,344 $\pm$ 0,188	1,053 $\pm$ 0,401	0,001
TG, mg/dl	22	39,8 $\pm$ 27,8	258,4 $\pm$ 138,4	0,001

n.s. = nicht signifikant

Messungen der Fettstoffwechselfparameter nach Fettinfusion bei Frühgeborenen wurden schon 1970 von Wolf et al. (163) und später auch von skandinavischen (164), ungarischen (165) und amerikanischen (166) Autoren durchgeführt. Der Anstieg der Triglyzeride weist auf eine begrenzte Kapazität der endothelialen Lipoproteinlipase im Fettgewebe und Muskel hin. Die nach Fettinfusion er-

reichten Triglyzeridspiegel zeigen außerordentliche Schwankungen (Tabelle XV). Dies entspricht einer großen Variabilität der Aktivität der Lipoproteinlipase bei Frühgeborenen (167). Die Plasmakonzentrationen der freien Fettsäuren nach Fettinfusion sind abhängig von

der Lipolyserate,

der Rate der Reesterifizierung und

der Rate der Fettsäureoxidation. Erhöhte Konzentrationen werden dann gefunden, wenn die Lipolyserate höher ist als die Rate der Reesterifizierung und Oxidation. Ein Anstieg der Ketonkörperspiegel im Blut zeigt an, daß die Rate der Ketogenese in der Leber höher ist als die der extrahepatischen Ketonkörperutilisation. Der Anstieg von Azylcarnitin und der Abfall von freiem Carnitin nach Fettinfusion wurde bei Frühgeborenen bisher nicht beschrieben und wird von uns als Indikator für eine erhöhte Fettsäureoxidationsrate angesehen. Dies wird wiederum durch die positive Korrelation zwischen Azylcarnitin und β -Hydroxybutyrat (Abbildung 26) bestätigt.

Wir fanden in unserem Patientenkollektiv kein Verhältnis zwischen chronologischem Alter oder Gestationsalter der Frühgeborenen und den gemessenen Fettstoffwechselparametern. Es ergab sich eine positive Korrelation zwischen der kalkulierten Carnitinzufuhr und dem Gesamtcarnitinspiegel vor der Fettinfusion

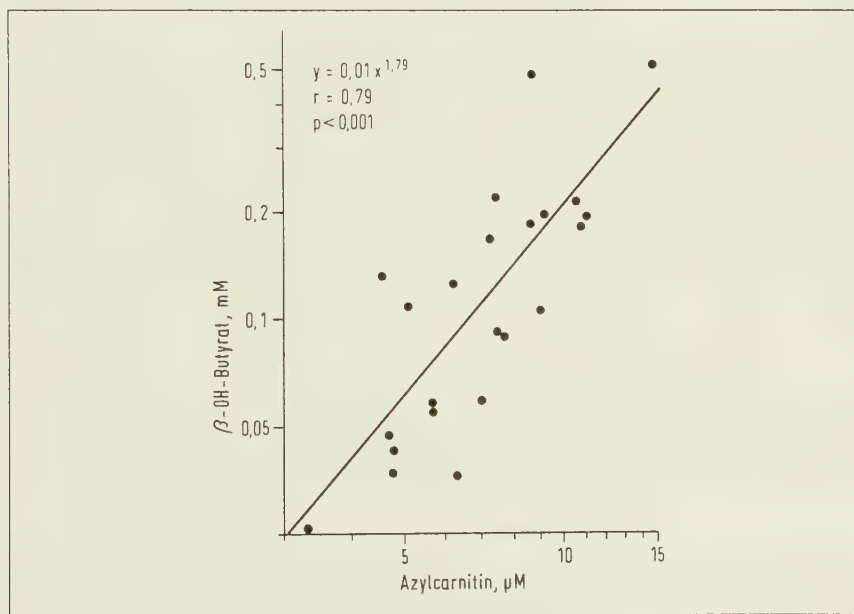


Abbildung 26. Korrelation zwischen den Konzentrationen von Azylcarnitin und β -Hydroxybutyrat im Plasma von Frühgeborenen nach Fettinfusion.

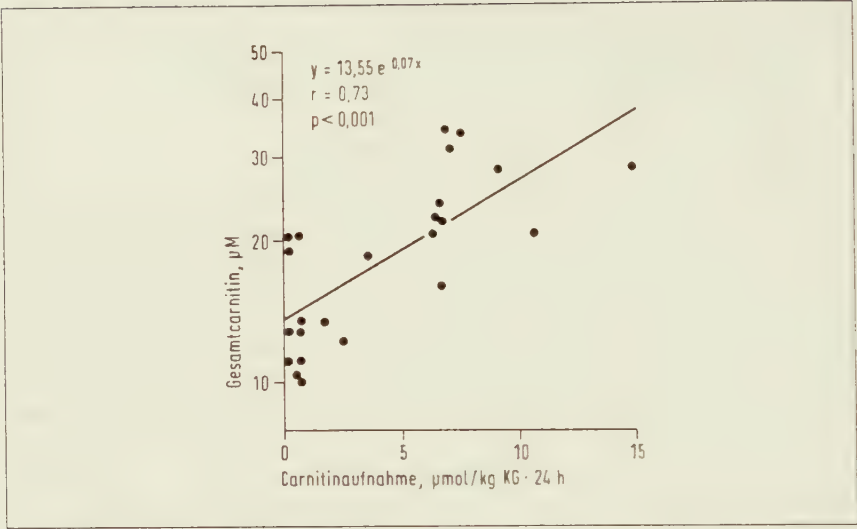


Abbildung 27. Korrelation zwischen errechneter Carnitinaufnahme und Plasmakonzentrationen von Gesamtcarnitin bei Frühgeborenen.

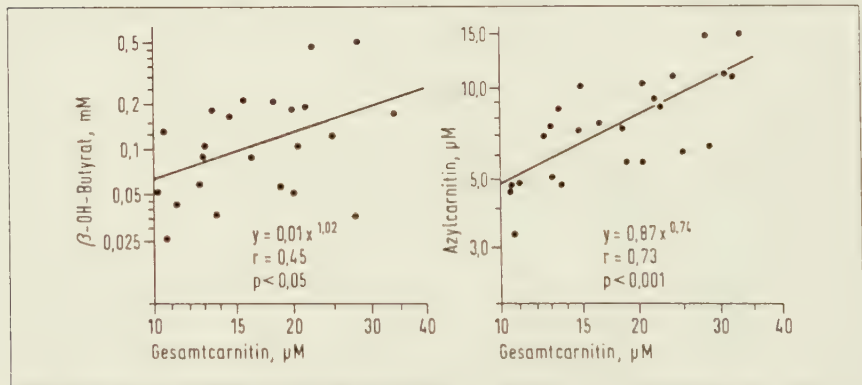


Abbildung 28. Korrelationen zwischen den Plasmakonzentrationen von Gesamtcarnitin vor und β -Hydroxybutyrat und Azylcarnitin nach Fettinfusion bei Frühgeborenen.

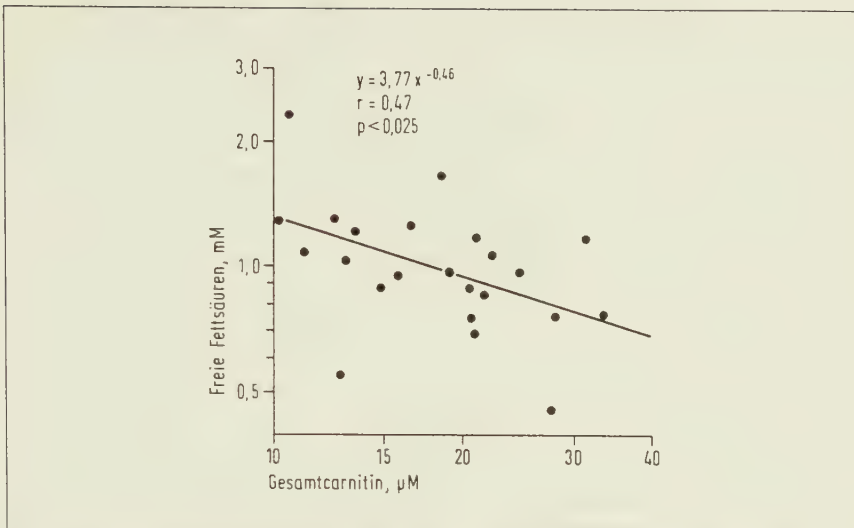


Abbildung 29. Korrelation zwischen den Plasmakonzentrationen von Gesamtcarnitin vor und freien Fettsäuren nach Fettinfusion bei Frühgeborenen.

(Abbildung 27). Dies bedeutet, daß die Carnitin-Blutspiegel von der Aufnahme von Carnitin mit der Nahrung abhängen und weist darauf hin, daß die endogene Carnitinbiosynthese bei Frühgeborenen unzureichend ist.

Abbildung 28 zeigt eine positive Korrelation zwischen Gesamtcarnitin und β -Hydroxybutyrat und zwischen Gesamtcarnitin und Azylcarnitin, Abbildung 29 eine negative Korrelation zwischen Gesamtcarnitin und freien Fettsäuren nach Fettinfusion. Diese Korrelationen könnten darauf hinweisen, daß die Kapazität zur Fettsäureoxidation und Ketogenese vom Carnitin-Blutspiegel und damit von der Carnitinzufuhr abhängig ist.

5.11 Die Wirkung einer Carnitinsubstitution auf Carnitin-Blutspiegel und Fettsäureoxidation bei parenteral ernährten Frühgeborenen

5.11.1 Patienten und Methoden

29 eutrophe Frühgeborene (29 bis 37 Schwangerschaftswochen, 1200–2490 g) erhielten für 5 bis 10 Tage aus klinischer Indikation eine totale parenterale Ernährung. Die Diagnosen entsprachen denen bei der vorangegangenen Studie (siehe 5.10). Von den Eltern wurde eine Erlaubnis zu der Untersuchung mündlich ein-

geholt. Die Ethik-Kommission des Fachbereichs Humanmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen hatte der Untersuchung zugestimmt. 15 Frühgeborene erhielten vom 2. Lebenstag an einen Zusatz von 10 mg/kg L-Carnitin (Sigma-tau, Rom) täglich über einen Zeitraum von etwa fünf Stunden zu ihrer parenteralen Ernährung. Die Dosierung war so berechnet, daß die täglich zugeführte Carnitinmenge etwa der Menge entsprach, die gesunde Frühgeborene maximal mit der Milch erhalten. Nebenwirkungen irgendwelcher Art wurden nicht beobachtet. Die übrigen 14 Frühgeborenen (Kontrollgruppe) erhielten die übliche Carnitinfreie parenterale Ernährung. Im übrigen entsprach das Infusionsregime bei beiden Gruppen dem unter 5.8.1 beschriebenen. Die Patienten erhielten im Alter von 6 bis 11 Tagen – vor Beginn einer oralen Nahrungszufuhr – eine 4stündige kontinuierliche Fettinfusion (10 ml/kg 10% Intralipid), während der keine andere Infusionslösung und kein Medikament gegeben wurde. Am Tag dieses Fett-Toleranztests wurde kein Carnitin verabreicht. Der Blutzucker wurde während des Tests stündlich mittels der Glukoseoxidasemethode gemessen. Mit einer Ausnahme kam es bei allen Frühgeborenen zu einem initialen Abfall ($p < 0,01$) des Blutzuckers (von 100 ± 54 mg/dl auf 50 ± 11 mg/dl). Während der 2. bis 4. Stunde des Tests stieg der Blutzucker wieder auf 70 ± 14 mg/dl an ($p < 0,01$). Ein Frühgeborenes entwickelte eine asymptomatische Hypoglykämie (< 30 mg/dl), die zum Abbruch des Tests zwang.

Vor und am Ende der Fettinfusion wurden je eine Blutprobe aus einer peripheren Vene entnommen und die unter 5.10 beschriebenen Messungen durchgeführt. Bei 14 Frühgeborenen wurden zusätzlich vor und nach Fettinfusion die langkettigen Carnitinerester im Plasma nach der kürzlich von *Brass* und *Hoppel* (168) veröffentlichten Methode bestimmt. Die Spezifität dieser Methode wurde folgendermaßen getestet: L-Palmitylcarnitin und im eigenen Labor synthetisiertes ^{14}C -Azetylcarnitin wurden einer Plasmaprobe zugesetzt. Nach Präzipitation mit 3% Perchlorsäure und 3maligem Waschen des Präzipitats mit Perchlorsäure konnte in diesem 95% des zugesetzten Palmitylcarnitins nachgewiesen und keine signifikante Kontamination mit ^{14}C -Azetylcarnitin festgestellt werden.

Zur Bestimmung der pharmakokinetischen Parameter wurde bei zwei Frühgeborenen (1300 g und 1900 g, 30. und 32. Schwangerschaftswoche) ein Bolus von 5 mg/kg L-Carnitin intravenös injiziert und kurz vor der Injektion sowie 3, 10, 60 und 180 Minuten nach der Injektion je eine kapilläre Blutprobe aus der Ferse zur Carnitinmessung entnommen.

5.11.2 Ergebnisse und Kommentar

In Übereinstimmung mit den Ergebnissen der vorangegangenen Studie fand sich bei allen Frühgeborenen infolge der Fettinfusion ein Anstieg ($p < 0,01$) der Plasmakonzentrationen von Triglyzeriden, freien Fettsäuren, β -Hydroxybutyrat, Azylcarnitin und des Verhältnisses von Azylcarnitin zu freiem Carnitin (AC/FC-

Ratio), aber keine Änderung der Gesamtcarnitinkonzentration im Plasma. Zudem war ein Anstieg ($p < 0,01$) sowohl der kurzkettigen als auch der langkettigen Carnitinester nachweisbar. Nach der Fettinfusion betrug der Anteil der langkettigen Carnitinester an den gesamten Carnitinestern $21 \pm 7\%$.

Über einen parallelen Anstieg der langkettigen und kurzkettigen Carnitinester im Plasma nach Fettinfusion wurde bisher noch nicht berichtet. Dieser Anstieg wird aber bei erhöhtem Fettkatabolismus beobachtet (siehe 1.2.2). In Ermangelung einer geeigneten Methode konnten die Azylcarnitine im Plasma bisher nicht näher identifiziert werden. Der größte Teil der kurzkettigen Carnitinester dürfte Azetylcarnitin sein (128). Es ist aber möglich, daß auch andere kurzkettige bzw. verzweigtkettige Carnitinester zum Anstieg des Azylcarnitins im Plasma beitragen.

Tabelle XVI gibt einen Überblick über die Korrelationen zwischen Carnitin und verschiedenen Parametern des Fettstoffwechsels nach Fettinfusion. Die β -Hydroxybutyrat-Konzentrationen waren positiv mit kurzkettigen und langkettigen Carnitinestern korreliert. Dies spricht für eine enge Beziehung zwischen der Veresterung von Carnitin und der Ketogenese in der Leber. Wie in der vorangegangenen Untersuchung (siehe 5.10) fand sich eine positive Korrelation zwischen β -Hydroxybutyrat und Gesamtcarnitin sowie zwischen Azylcarnitin und Gesamtcarnitin im Blut. Dies könnte wiederum auf eine Abhängigkeit der Fettsäureoxidation vom Carnitinspiegel hinweisen. Keine signifikante Korrelation wurde aber zwischen der Konzentration von freien Fettsäuren und dem Gesamtcarnitin im Blut beobachtet. Dies widerspricht unserem früheren Ergebnis (siehe 5.10), ist aber nicht überraschend, wenn man bedenkt, daß die Blutspiegel von freien Fettsäuren nicht nur durch die Rate der Carnitin-abhängigen Fettsäureoxidation, sondern auch durch die der Lipolyse und Reesterifizierung bestimmt werden.

Tabelle XVI. Beziehung zwischen Carnitin und Fettstoffwechselparametern nach Fettinfusion bei 28 Frühgeborenen (29.-37. SSW), die parenteral ernährt wurden. TC = Gesamtcarnitin, FC = freies Carnitin, AC = Azylcarnitin, FFS = freie Fettsäuren, β OHB = β -Hydroxybutyrat.

	r	p <
TC vs. AC	0,81	0,001
TC vs. β OHB	0,40	0,05
TC vs. FFS	0,14	n.s.
TC vs. FFS/ β OHB ^a	0,71	0,001
AC vs. β OHB	0,69	0,001
Kurzk. AC vs. β OHB	0,65	0,02
Langk. AC vs. β OHB	0,78	0,001

^a nur unreifere Frühgeborene (29.-33. SSW), n = 13

n.s. = nicht signifikant

Die Rate der Fettsäureoxidation hängt unter physiologischen Stoffwechselbedingungen von der Konzentration der zirkulierenden freien Fettsäuren ab (169). Sind Fettsäureoxidation bzw. Ketogenese gestört, müßte der Quotient freie Fettsäuren zu β -Hydroxybutyrat (FFS/ β OHB) im Plasma erhöht sein, wie z. B. beim systemischen Carnitinmangel gefunden wurde (170). Wir halten daher diesen Quotienten für eine Größe, die Auskunft über die Fähigkeit der Leber zur Ketonkörperbildung gibt. Zu berücksichtigen ist allerdings, daß der FFS/ β OHB-Quotient im Plasma auch von der peripheren Ketonkörperverwertung, die wir bei unseren Patienten nicht messen konnten, abhängt. Ob diese vom Gestationsalter beeinflusst wird, ist unbekannt. Ob sie einem Einfluß von Carnitin unterliegt, wurde kontrovers diskutiert (171–173), doch haben neuere tierexperimentelle Untersuchungen gezeigt, daß Carnitin zwar die Ketonkörperproduktion, nicht aber deren Oxidation beeinflusst (174). Die Interpretation der folgenden Ergebnisse geht daher von der Annahme aus, daß bei unseren Patientengruppen die extrahepatische Ketonkörperverwertung nicht wesentlich unterschiedlich ist.

Bei den unreiferen Frühgeborenen (29. bis 33. Schwangerschaftswoche) war nach Fettinfusion eine enge Korrelation zwischen dem FFS/ β -OHB-Quotienten und dem Gesamtcarnitin-Blutspiegel festzustellen (Tabelle XVI). Dies traf aber nicht für die reiferen Frühgeborenen (34. bis 37. Schwangerschaftswoche) zu. Aufgrund dieser Beobachtung wurden die beiden Patientengruppen (Carnitin-supplementierte und nicht supplementierte Frühgeborene) in je zwei Gestationsaltergruppen unterteilt (Tabelle XVII).

Tabelle XVII. Gesamtcarnitin (TC), Azylcarnitin (AC), β -Hydroxybutyrat (β OHB), freie Fettsäuren (FFS) und Triglyzeride (TG) nach Fettinfusion im Plasma von vier Gruppen von Frühgeborenen, die parenterale Ernährung mit (+ Carnitin) oder ohne (Kontrolle) L-Carnitin-Zusatz erhielten ($\bar{x} \pm s$).

	29.–33. SSW		34.–37. SSW	
	+ Carnitin n = 7	Kontrolle n = 6	+ Carnitin n = 7	Kontrolle n = 8
TC ^e , μ M	51,5 $\pm$ 11,2 ^a	13,2 $\pm$ 3,0	65,1 $\pm$ 19,7 ^b	15,6 $\pm$ 3,6
AC, μ M	18,1 $\pm$ 10,3 ^a	4,9 $\pm$ 1,4 ^b	24,3 $\pm$ 13,8 ^b	8,2 $\pm$ 3,0
β OHB, mM	0,20 $\pm$ 0,12	0,09 $\pm$ 0,07 ^c	0,36 $\pm$ 0,22	0,22 $\pm$ 0,13
FFS, mM	1,42 $\pm$ 0,73	1,69 $\pm$ 1,12	0,89 $\pm$ 0,36	1,04 $\pm$ 0,33
FFS/ β OHB	8,3 $\pm$ 2,8 ^{a, d}	20,6 $\pm$ 7,1 ^b	3,9 $\pm$ 3,2	6,4 $\pm$ 4,1
TG, mg/dl	327 $\pm$ 205	358 $\pm$ 139	307 $\pm$ 173	224 $\pm$ 121

^ap < 0,01 verglichen mit Kontrolle 29.–33. SSW

^bp < 0,01 verglichen mit Kontrolle 34.–37. SSW

^cp < 0,05 verglichen mit Kontrolle 34.–37. SSW

^dp < 0,02 verglichen mit + Carnitin 34.–37. SSW

^evor Fettinfusion

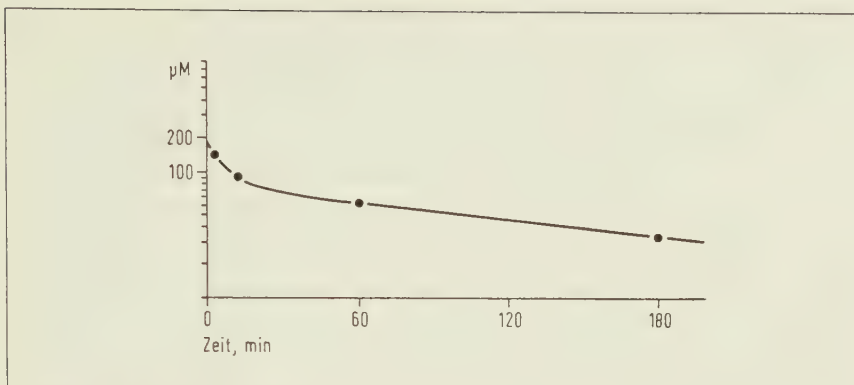


Abbildung 30. Errechnete Elimination von L-Carnitin aus dem Plasma eines Frühgeborenen (30. SSW). Ordinate: Plasmakonzentrationen von freiem Carnitin; Abszisse: Zeitdauer nach einer Bolusinjektion von 5 mg/kg L-Carnitin. Die Punkte geben die gemessenen Konzentrationen an; mit Unterstützung von H. Brockmeier und H.M. von Hattingberg.

Bei den supplementierten Frühgeborenen waren die Plasmaspiegel von Gesamtcarnitin normal oder etwas erhöht, während sie bei den nicht supplementierten Frühgeborenen deutlich erniedrigt waren (siehe auch Abbildung 31). Dies demonstriert, daß der Carnitinzusatz zur parenteralen Ernährung die Carnitin-Blutspiegel aufrecht erhalten kann.

Um herauszufinden, ob es sich bei den Blutwerten, die mindestens zwölf Stunden nach der letzten intravenösen Carnitinzufuhr gemessen wurden, um etwa basale Carnitin-Blutspiegel handelt, führten wir bei zwei Frühgeborenen pharmakokinetische Messungen durch (siehe 5.11.1). Eine vom Computer errechnete Eliminationskurve ist in Abbildung 30 dargestellt. Während der ersten 20 Minuten nach Injektion fand sich eine rasche Elimination aus dem Plasma (Halbwertszeit 5,1 min), die von einer langsameren Elimination (Halbwertszeit 112 min) gefolgt wurde. Dies entspricht dem von Cederblad und Lindstedt (159) aufgrund ihrer Untersuchungen mit radioaktiv markiertem Carnitin bei Ratten postulierten 2-Kompartiment-Modell. Die Autoren gehen von einem kleineren Kompartiment, das dem extrazellulären Raum und Geweben mit hoher Umsatzrate wie z. B. Leber entspricht, und einem größeren Kompartiment, das der Muskulatur entspricht, aus. Die kalkulierte mittlere Verweildauer von L-Carnitin (Umsatzzeit) betrug bei unseren Frühgeborenen 154 bzw. 164 Minuten.

Bei beiden Frühgeborenen wurde innerhalb von 180 Minuten nach Carnitininjektion ein Anstieg der Konzentration der Carnitinester um 50 bis 100% beobachtet. Ein solcher Anstieg nach Bolusinjektion wurde auch von Brass und Hoppel (1975) bei Ratten gefunden. Hierbei handelt es sich wahrscheinlich um den Versuch des Organismus, das akut gestörte Gleichgewicht zwischen freiem und verestertem Carnitin aufrecht zu erhalten.

Die Werte von β -Hydroxybutyrat waren bei den reiferen Frühgeborenen (34. bis 37. Schwangerschaftswoche) höher als bei den unreiferen (29. bis 33. SSW) (Tabelle XVII). Bei Carnitin-supplementierten Frühgeborenen waren die Mittelwerte für β -Hydroxybutyrat höher und die für freie Fettsäuren niedriger als bei nicht supplementierten Frühgeborenen gleichen Gestationsalters. Diese Unterschiede erreichten aber keine statistische Signifikanz. Deutlich signifikante Unterschiede fanden sich hingegen bei dem FFS/ β OHB-Quotienten der vier Gruppen nach Fettinfusion (Abbildung 31): Diese waren bei den nicht supplementierten Frühgeborenen der 29. bis 33. Schwangerschaftswoche höher als bei den anderen drei Gruppen. Bei dieser Quotient jedoch nicht unterschiedlich. Bei den supplementierten Frühgeborenen zeigten die unreiferen einen etwas höheren FFS/ β OHB-Quotienten als die reiferen ($p < 0,02$).

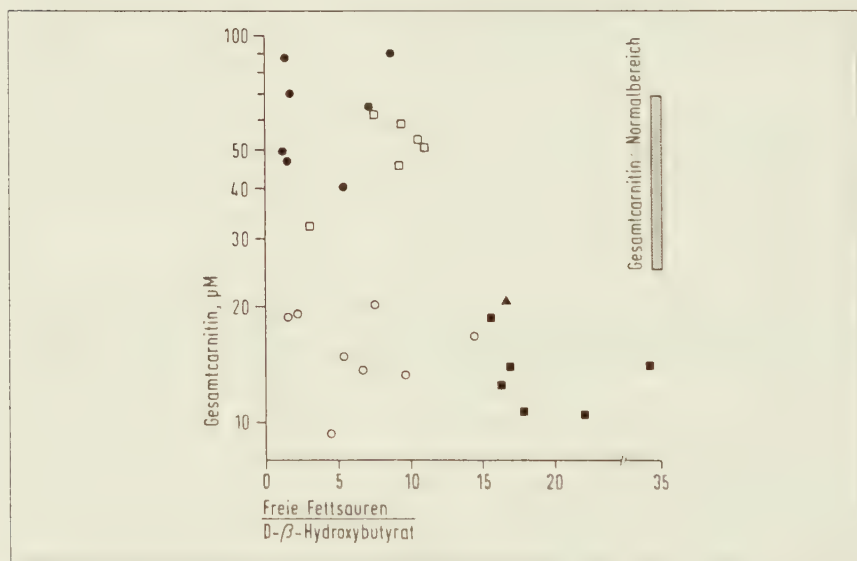


Abbildung 31. Korrelation zwischen den Plasmakonzentrationen von Gesamtcarnitin vor und dem FFS/ β OHB-Quotienten nach Fettinfusion bei vier Gruppen von parenteral ernährten Frühgeborenen

● Carnitin-supplementierte Frühgeborene, 34.-37. SSW

○ nicht supplementierte Frühgeborene, 34.-37. SSW

□ Carnitin-supplementierte Frühgeborene 29.-33. SSW

■ nicht supplementierte Frühgeborene 29.-33. SSW

▲ Carnitin-supplementiertes Frühgeborenes der 32. SSW mit abnorm hoher Carnitinausscheidung

Der normale Bereich der Plasmakonzentrationen von Gesamtcarnitin bei oral ernährten Frühgeborenen ist angegeben.

Ein Carnitin-supplementiertes Frühgeborenes (32. Schwangerschaftswoche) hatte einen leicht erniedrigten Carnitin-Blutspiegel und einen hohen FFS/ β OHB-Quotienten (Abbildung 31). Bei diesem Kind bestand eine vorübergehende Störung der tubulären Nierenfunktion mit Hyperaminoazidurie und abnorm hoher Carnitinausscheidung. Es wurde deshalb bei der statistischen Auswertung der Daten nicht berücksichtigt.

Offenbar hängt der FFS/ β OHB-Quotient im Plasma von Frühgeborenen nach Fettinfusion von mindestens zwei Faktoren ab: Gestationsalter und Carnitin-Plasmaspiegel. Der Gestationsalter-bedingte Unterschied scheint sich durch Carnitinsubstitution zu verringern. Bei den reiferen Frühgeborenen spielt die Carnitinsubstitution offensichtlich eine geringere Rolle als bei unreiferen. Letztere zeigen einen deutlich niedrigeren FFS/ β OHB-Quotienten, wenn sie mit Carnitin supplementiert sind, als wenn sie Carnitin-frei ernährt werden. Dies weist darauf hin, daß bei Frühgeborenen unter 34 Schwangerschaftswochen die Fähigkeit, Fettsäuren zu oxidieren, durch Carnitinsubstitution verbessert werden kann.

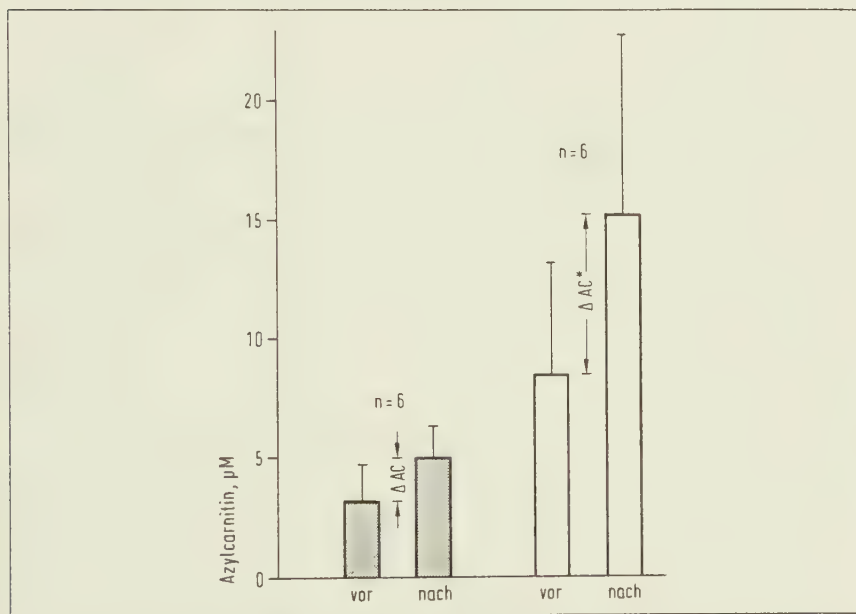


Abbildung 32. Plasmakonzentrationen von Azylcarnitin bei Carnitin-supplementierten (weiße Säulen) und nicht supplementierten (schwarze Säulen) parenteral ernährten Frühgeborenen (29.-33. SSW) vor und nach Fettinfusion. Die Säulen geben die Mittelwerte $\pm$ s an. Δ AC: Anstieg von Azylcarnitin nach Fettinfusion. *p < 0,05 verglichen mit nicht supplementierten Frühgeborenen.

Analoges gilt für den Anstieg der Blutspiegel von Azylcarnitin infolge Fettinfusion: alle Carnitin-supplementierte Frühgeborene hatten vor und nach Fettinfusion höhere Blutspiegel von Azylcarnitin ($p < 0,01$) als nicht supplementierte Frühgeborene, aber der Anstieg von Azylcarnitin nach Fettinfusion (ΔAC) war nur zwischen den beiden unreiferen Gruppen unterschiedlich und zwar größer bei den Carnitin-supplementierten als bei den nicht supplementierten Frühgeborenen (Abbildung 32).

Die Konzentration von Azylcarnitin im Plasma steigt sowohl nach Carnitininjektion (175) als auch bei erhöhter Fettsäureoxidationsrate (siehe 1.2.2) an. Da unsere Patienten während der Fettinfusion kein Carnitin erhalten haben, müßten unterschiedliche Anstiege von Azylcarnitin infolge Fettinfusion auf eine unterschiedliche Rate der Fettsäureoxidation hinweisen. Allerdings ist über die Regulation des Verhältnisses der Plasmakonzentrationen von freiem Carnitin und Azylcarnitin zueinander und über den Einfluß einer Carnitingabe einerseits und einer Änderung des Fettstoffwechsels andererseits auf die Regulation des Verhältnisses noch zu wenig bekannt, als daß hieraus gesicherte Rückschlüsse auf Änderungen im Fettstoffwechsel gezogen werden könnten. Es ist aber deutlich erkennbar, daß der im Vergleich zur Kontrollgruppe größere Anstieg von Azylcarnitin bei supplementierten Frühgeborenen der 29. bis 33. SSW dem niedrigeren FFS/ β OHB-Quotienten entspricht.

Die nach Fettinfusion gemessenen Triglyzeridwerte schwankten außerordentlich stark und waren zwischen den vier Patientengruppen nicht unterschiedlich (Tabelle XVII). Im Gegensatz dazu fanden *Andrew et al.* (166) bei einem ähnlichen Infusionsschema signifikant unterschiedliche Triglyzeridwerte bei Neugeborenen unter und über 33 Schwangerschaftswochen. Dies könnte damit zusammenhängen, daß im Patientenkollektiv dieser Autoren im Gegensatz zu unserem auch reife Neugeborene enthalten waren. Wir konnten jedenfalls keinen Einfluß des Gestationsalters oder der Versorgung mit Carnitin auf den nach Fettinfusion erreichten Triglyzeridspiegel feststellen.

6. Allgemeine Diskussion

6.1 Die Rolle der Plazenta bei der Versorgung des Feten mit Carnitin und Carnitinestem

Die postnatale Abnahme des Carnitingehaltes im Plasma (siehe 5.8) und in verschiedenen Körpergeweben (siehe 5.9) von Carnitin-frei ernährten Frühgeborenen zeigt an, daß der Organismus des nicht ausgetragenen menschlichen Neugeborenen zumindest teilweise auf exogene Carnitinzufuhr angewiesen ist. Dies könnte auch für den Feten zutreffen, obgleich direkte Beweise dafür bisher fehlen.

Nach den Ergebnissen unserer Untersuchungen an der in vitro perfundierten menschlichen Plazenta stellt die Plazentabariere kein Hindernis für die Versorgung des Feten mit Carnitin dar. Dies war aufgrund der sehr geringen Differenz und der engen Korrelation zwischen den Carnitinkonzentrationen im mütterlichen und fetalen Blut bei der Geburt (siehe 5.1) bereits zu vermuten. Wie die angestellten Berechnungen (siehe 5.3) zeigen, ist eine endogene Carnitinbiosynthese des Feten zum Aufbau seiner Carnitin-Gewebespeicher nicht erforderlich. Direkte Messungen des plazentaren Übertritts von Carnitin wurden bisher nur im Tierexperiment durchgeführt. Dabei zeigten sich erhebliche Unterschiede zwischen den Spezies. Bei der Ratte und beim Schaf ist der Transfer von Carnitin vom Muttertier auf den Feten sehr langsam, beim Meerschweinchen und beim Kaninchen wesentlich schneller (176). Dies stimmt mit der Beobachtung überein, daß beim Meerschweinchen und Kaninchen die fetalen Carnitin-Blutspiegel den mütterlichen nahekommen, während sie bei Ratte und Schaf nur höchstens halb so hoch wie die mütterlichen sind (177). Ein Vergleich der perinatalen Carnitin-Blutspiegel bei verschiedenen Spezies legt den Schluß nahe, daß die menschliche Plazenta bezüglich des Carnitintransportes in die Kategorie der Meerschweinchen- bzw. Kaninchenplazenta fällt.

Wir (siehe 5.1) und andere Autoren (122) fanden im venösen Nabelschnurblut immer eine etwas höhere Konzentration von freiem Carnitin als im mütterlichen Blut. Dieser Befund legte zunächst die Vermutung nahe, daß in der Plazenta ein aktiver Transport von Carnitin in Richtung auf den Feten analog den meisten

Aminosäuren stattfindet. Die Ergebnisse unserer Experimente mit der in vitro perfundierten menschlichen Plazenta sprechen aber gegen die Existenz eines solchen Transportes. Er ist auch kaum notwendig, da der Bedarf des fetalen Organismus für Carnitin, das im Gegensatz zu den Aminosäuren praktisch nicht metabolisiert wird, vergleichsweise gering ist.

Neben freiem Carnitin passiert auch Azetylcarnitin die Plazentaschranke. Zudem konnten wir zeigen, daß die Plazenta Azetylcarnitin und andere kurzkettige Carnitinerester auch durch eine eigene Stoffwechselleistung an den fetalen Kreislauf abgeben kann. Die aktive Rolle der Plazenta im Carnitinstoffwechsel ließ sich mittels der In-vitro-Perfusion gut demonstrieren, da in diesem System der mütterliche und fetale Stoffwechsel ausgeschaltet sind. Aufgrund seiner Enzymausstattung – sowohl Carnitin-Palmityl-Transferase (CPT) als auch Carnitin-Acetyl-Transferase (CAT) wurden in der menschlichen Plazenta nachgewiesen (178, 179) – ist dieses Organ offenbar in der Lage, Carnitinerester zu utilisieren und zu produzieren.

Katabole Stoffwechselsituationen, wie sie beim schlecht eingestellten Diabetes mellitus (129) und bei der Schwangerschaftstoxikose (131) oder bei Wehentätigkeit (siehe 5.1) beobachtet werden, führen möglicherweise über einen Anstieg von Azylcarnitin im mütterlichen Blut zu einem verstärkten Übertritt kurzkettiger Carnitinerester auf den Feten (siehe 5.2). Der Weg, auf dem Carnitinerester vermehrt in das Fruchtwasser gelangen können, wird in Abbildung 33 verdeutlicht. Die mütterliche Leber, die Plazenta und der fetale Organismus kommen als Produzenten von Carnitinerestern in Frage. Dabei kann die Quelle der Carnitinerester bei verschiedenen Schwangerschaftskomplikationen unterschiedlich sein. So wäre beim Diabetes mellitus ohne Gefäßveränderung kaum, bei Krankheiten mit Störungen der Plazentafunktion aber durchaus mit einer vermehrten fetalen Produktion von Carnitinerestern zu rechnen. Die unter Wehen gefundenen erhöhten mütterlichen Plasmakonzentrationen von Azylcarnitin (siehe 5.1) weisen darauf hin, daß zum Zeitpunkt der Geburt Carnitinerester überwiegend aus dem mütterlichen Fettkatabolismus stammen. Vergleiche zwischen den Konzentrationen im mütterlichen, venösen und arteriellen Nabelschnurblut zeigen, daß diese Ester vor allem in der Plazenta, weniger im Feten verwertet werden. Solche Beobachtungen lassen aber keine sicheren Rückschlüsse auf die Situation während der Schwangerschaft zu.

Es ist nicht bekannt, inwieweit kurzkettige Carnitinerester als Energiesubstrat oder Substrat der Fettsäuresynthese für den Feten von Bedeutung sind. Ihre im Vergleich zu anderen Energieträgern relativ niedrige Konzentration läßt eine solche Rolle zweifelhaft erscheinen. Vielmehr ist anzunehmen, daß die Bildung dieser Ester einen Mechanismus des Organismus darstellt, um die beim Fettabbau anfallenden überschüssigen Azylgruppen zu eliminieren. Dafür spricht die im Vergleich zum freien Carnitin relativ hohe Konzentration von Azylcarnitin im Urin und Fruchtwasser (siehe 5.2).

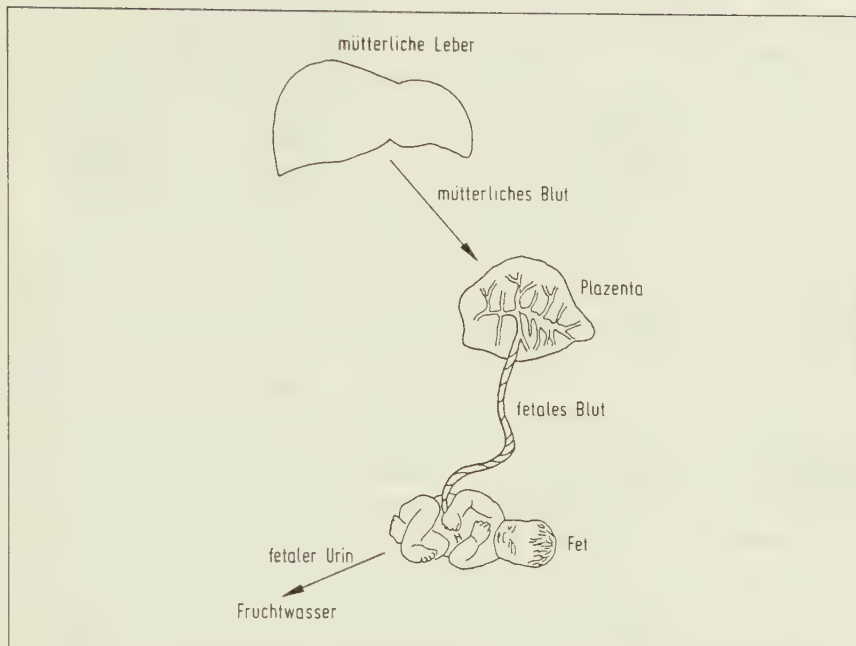


Abbildung 33. Der Weg, auf dem Carnitinester in das Fruchtwasser gelangen können.

6.2 Die Rolle des Carnitins im Fettgewebsstoffwechsel des Neugeborenen

Das subkutane Fettgewebe des Neugeborenen ist aus zwei Gründen für die Untersuchung des Fettstoffwechsels der Neonatalperiode des Menschen geeignet: Es ist 1. ohne Risiko für das Kind leicht zu gewinnen und 2. wegen morphologischer und funktioneller Verwandtschaft zum braunen Fettgewebe (111) nicht nur als Ort von Lipolyse und Fettsäureesterifizierung, sondern auch als Ort der β -Oxidation aktiv (siehe 1.5.2). Wir konnten zeigen, daß die Oxidation langkettiger Fettsäuren im Fettgewebe des Neugeborenen Carnitin-abhängig ist (siehe 5.6) und daß sowohl die Konzentration von Carnitin (siehe 5.4) als auch die Aktivität der CPT (siehe 5.5) im Fettgewebe nach der Geburt zunehmen. Diese Zunahmen fallen zeitlich zum einen mit der beginnenden Zufuhr von Carnitin und Fett mit der Milch (siehe 5.7), zum anderen mit der vermehrten endogenen Freisetzung von freien Fettsäuren und der erhöhten Produktion von Ketonkörpern zusammen (siehe 1.5.1). Diese Zusammenhänge legen die Spekulation nahe, daß die exogene Zufuhr von Carnitin eine wichtige Rolle bei der nach der Geburt einsetzenden Fettverwertung spielt. Diese Hypothese wird dadurch gestützt, daß bei

neugeborenen Versuchstieren ein nahrungsabhängiger Anstieg der Carnitinkonzentration und der CPT-Aktivität in der Leber gefunden wurde, der mit einer Steigerung der Ketogenese einhergeht (145).

Da bei Frühgeborenen subkutanes Fettgewebe naturgemäß nur in sehr begrenzter Menge gewonnen werden kann, konnten wir bei diesen nur in vier Fällen die Aktivität der CPT messen. Sie war niedriger als die von reifen Neugeborenen vergleichbaren Alters. Dies könnte auf eine herabgesetzte Fähigkeit Frühgeborener, Fettsäuren zu oxidieren, hinweisen.

6.3 Die Folgen einer fehlenden Carnitinzufuhr bei parenteral ernährten Frühgeborenen

Der Abfall der Blut- und Gewebespiegel von Carnitin unter parenteraler (Carnitin-freier) Ernährung (siehe 5.8 und 5.9) zeigt, daß bei Frühgeborenen die endogene Carnitinbiosynthese offenbar nicht ausreicht, um Carnitinkonzentrationen aufrecht zu erhalten. Die Plasmaspiegel zeigen eine deutliche Abhängigkeit von der Menge des mit der Nahrung aufgenommenen Carnitins (siehe 5.10) und können daher zur Abschätzung des Ausmaßes des Carnitinmangels diagnostisch herangezogen werden. Daß der Carnitinmangel bei parenteral ernährten Frühgeborenen nicht aufgrund renaler Carnitinverluste entsteht, beweist der drastische Abfall der Carnitinkonzentration im Urin (siehe 5.8). Die Niere kann in dieser Situation Carnitin für den Körper konservieren. Möglicherweise wird durch Mobilisation von Carnitin aus den Gewebespeichern ein minimaler Blutspiegel aufrecht erhalten.

Es ist unbekannt, bis zu welchem Grade das Frühgeborene Carnitin zu synthetisieren vermag. Daten über Aktivitäten der an der Carnitinsynthese beteiligten Enzyme bei Frühgeborenen liegen nicht vor. *Rebouche et al.* (160) konnten lediglich zeigen, daß die Aktivität der γ -Butyrobetain-Hydroxylase in der bei Autopsie gewonnenen Leber von Säuglingen nur 12% der von Erwachsenen beträgt. Bei der Ratte kommt es zwischen dem 4. und 8. Lebenstag zu einem abrupten Anstieg der Aktivität dieses Enzyms (161). Diese Daten zeigen, daß die Kapazität des Organismus zur Carnitinbiosynthese einer Entwicklung unterliegt. Eine exogene Carnitinzufuhr könnte daher um so notwendiger sein, je unreifer der Organismus ist.

Messungen der Fettstoffwechselfparameter nach Fettinfusion (siehe 5.10) zeigen, daß der bei parenteral ernährten Frühgeborenen auftretende diätetische Carnitinmangel Auswirkungen auf den Fettstoffwechsel hat. Die positive Korrelation zwischen Carnitin und β -Hydroxybutyrat sowie die negative Korrelation zwischen Carnitin und freien Fettsäuren im Plasma nach Fettinfusion geben einen Hinweis darauf, daß die Kapazität der Leber zur Fettsäureoxidation und Ketogenese vom Carnitin-Plasmaspiegel und damit von der Carnitinzufuhr abhängt. Bei verminderter Carnitinzufuhr und erniedrigtem Carnitin-Plasmaspiegel müßte

folglich mit Störungen der Fettverwertung gerechnet werden. Diese Hypothese basiert auf der Annahme, daß bei Frühgeborenen

niedrige Carnitin-Blutspiegel niedrige Carnitinkonzentrationen in der Leber reflektieren und

- die Carnitinkonzentration in der Leber für eine optimale Fettsäureoxidation und Ketogenese kritisch ist.
- Erstere Annahme wird durch eigene Messungen (siehe 5.9), letztere durch tierexperimentelle Untersuchungen gestützt (36).

Störungen des Fettsäureabbaus konnten wir bei kleinen Frühgeborenen unter 34 Schwangerschaftswochen feststellen (siehe 5.11). Sie hatten nach Fettinfusion trotz erhöhter freier Fettsäuren niedrige Ketonkörperspiegel im Plasma (hohe FFS/ β OHB-Quotienten). Daß dies nicht allein auf das niedrige Gestationsalter zurückzuführen ist, zeigt der Vergleich mit der Gruppe von Frühgeborenen gleichen Gestationsalters, die eine mit Carnitin supplementierte parenterale Ernährung erhielt. Bei diesen Frühgeborenen konnte nicht nur eine Normalisierung der Carnitin-Plasmaspiegel, sondern unter der Bedingung einer Fettbelastung auch eine Verbesserung der Fettsäureoxidation und Ketogenese nachgewiesen werden (siehe 5.11). Dabei bleibt offen, ob dieser Effekt einer Carnitinsubstitution auf den Fettstoffwechsel auch während der allgemein üblichen parenteralen Ernährung, bei der ein hoher Anteil der zugeführten Kalorien aus Glukose besteht, nachweisbar ist. Glukose, gleichzeitig mit Fett infundiert, kann durch hormonale und metabolische Mechanismen die Rate der Fettsäureoxidation hemmen und die der Esterifizierung von freien Fettsäuren erhöhen (180). Dadurch können die metabolischen Folgen eines Carnitinmangels maskiert werden. Die von uns gewählte tägliche Dosierung von L-Carnitin ($10 \text{ mg/kg} \times \text{Tag}$) entspricht der maximal möglichen physiologischen Carnitinzufuhr über ein Carnitin-reiches Milchpräparat (siehe 5.7). Es wäre denkbar, daß auch mit einer niedrigeren Dosierung (z. B. $5 \text{ mg/kg} \times \text{Tag}$) ein meßbarer Effekt auf die Fettsäureoxidation parenteral ernährter Frühgeborener erreicht werden kann.

7. Ausblick

Zu untersuchen bleibt, ob beim diätetischen Carnitinmangel Frühgeborener außer den beschriebenen Störungen der Fettsäureoxidation noch andere Stoffwechselstörungen, beispielsweise im Abbau der verzweigtkettigen Aminosäuren oder bei der Glukoneogenese, auftreten. Ferner ist unbekannt, ob in den Organen morphologische Auffälligkeiten wie abnorme Fetteinlagerungen und Veränderungen der mitochondrialen Struktur, wie wir sie vom angeborenen Carnitinmangel her kennen (siehe 1.4), nachweisbar sind. Auch konnte bisher dem diätetischen Carnitinmangel bei Frühgeborenen kein klinisch faßbares Krankheitsbild, das etwa mit Zeichen von Myopathie und Kardiomyopathie einhergehen könnte, zugeordnet werden. Dies zu untersuchen, stößt wegen der im allgemeinen lebensbedrohlichen Situation parenteral ernährter, meist beatmeter, kleiner Frühgeborener auf große Schwierigkeiten. Episoden von Hypoxie und Azidose machen die Zuordnung sowohl der genannten morphologischen Veränderungen als auch der klinischen Symptome zum Carnitinmangel fast unmöglich. Hier müßte u. U. ein Tiermodell weiterhelfen können.

Ob auch parenteral ernährte reife Neugeborene oder Säuglinge in ähnlicher Weise wie Frühgeborene einen Carnitinmangel mit Störungen der Fettsäureoxidation entwickeln können, ist unbekannt, wäre aber bei lang andauernder parenteraler Ernährung denkbar. Wir wissen nicht, zu welchem Zeitpunkt der postnatalen Entwicklung eine ausreichende endogene Carnitinbiosynthese beim Menschen einsetzt. Die Behebung eines Carnitinmangels könnte vor allem dann von klinischer Bedeutung sein, wenn Fettemulsionen Bestandteil der parenteralen Ernährung sind. Fette fanden in den letzten Jahren zunehmend Eingang in die parenterale Ernährung Frühgeborener, um unter Vermeidung einer Volumenüberlastung eine ausreichende Kalorienzufuhr zu gewährleisten und das Entstehen eines Mangels an essentiellen Fettsäuren (181, 182) zu verhindern. In der Literatur wurde über Hyperlipidämien und abnorme Fetteinlagerungen in der Lunge und in anderen Geweben nach Zufuhr von Fettemulsionen berichtet (183–185). Es ist nicht bekannt, ob solche pathologischen Veränderungen durch Zugabe von Carnitin zur parenteralen Ernährung über eine Verbesserung der Fettverwertung beeinflußt werden können.

Die hier vorgelegten Arbeiten liefern Hinweise dafür, daß

- dem Carnitin eine wichtige Rolle im Fettstoffwechsel der Perinatalperiode zukommt und
- bei parenteral ernährten Frühgeborenen ein diätetischer Carnitinmangel mit Störungen der Fettsäureoxidation entsteht, der durch L-Carnitin behoben werden kann.

Die Ergebnisse sollten Anlaß geben, darüber nachzudenken, ob Carnitin als essentieller Bestandteil einer optimalen Ernährung für Frühgeborene anzusehen ist.

8. Zusammenfassung

Carnitin spielt eine Schlüsselrolle bei der Oxidation von Fettsäuren, indem es deren Transport über die innere mitochondriale Membran ermöglicht. Seine Verfügbarkeit ist insbesondere dann kritisch, wenn – wie unmittelbar nach der Geburt – die Energiegewinnung des Körpers überwiegend aus Fett erfolgt.

Es wurde durch Messungen von Carnitin-Blutspiegeln bei der Geburt und durch In-vitro-Untersuchungen gezeigt, daß die menschliche Plazenta keine Barriere für die Versorgung des Feten mit Carnitin darstellt. Ein Transport gegen einen Konzentrationsgradienten vom mütterlichen in den fetalen Kreislauf war für Carnitin nicht nachweisbar. Es konnte aber eine aktive Rolle der Plazenta im Carnitinstoffwechsel demonstriert werden. Azetylcarnitin passierte die Plazentaschranke ebenfalls, nicht jedoch Palmitylcarnitin.

Am Ende der Schwangerschaft waren die mütterlichen Carnitin-Blutspiegel erniedrigt. Bei vaginaler Entbindung stieg das Verhältnis zwischen der Konzentration von Azylcarnitin und freiem Carnitin ebenso wie die Konzentration der Ketonkörper im mütterlichen Plasma als Zeichen eines erhöhten Fettkatabolismus an. Im Fruchtwasser war bei durch Diabetes mellitus und EPH-Gestose komplizierter Schwangerschaft die Konzentration von Azylcarnitin erhöht.

Nach der Geburt war die Fettsäureoxidation im subkutanen Fettgewebe Carnitin-abhängig. Sowohl die Konzentration von säurelöslichem und säureunlöslichem Carnitin als auch die Aktivität der mitochondrialen Carnitin-Palmityl-Transferase im Fettgewebe nahmen zu. Diese Zunahmen fielen zeitlich mit der beginnenden Zufuhr von Carnitin mit der Milch zusammen.

Der Carnitingehalt in der Muttermilch nahm in der ersten Woche der Laktation zu, dann wieder ab und blieb im weiteren Verlauf der Laktation konstant. Kuhmilchpräparate enthielten teilweise größere Mengen von Carnitin als Frauenmilch, während Sojamilchpräparate kein Carnitin enthielten.

Bei parenteral (Carnitin-frei) ernährten Frühgeborenen fielen die Carnitinkonzentrationen im Plasma und im Urin bereits nach fünf Tagen ab, nicht hingegen bei oral ernährten Frühgeborenen. Letztere zeigten eine Abhängigkeit ihrer Carnitin-Blutspiegel von der Menge des mit der Nahrung aufgenommenen Carnitins. Die Carnitinkonzentrationen in Leber, Niere und Herz fielen bei fehlender Carnitinzufuhr ebenfalls ab.

Nach Fettinfusion stiegen bei Frühgeborenen die Konzentrationen von kurzkettigen und langkettigen Carnitinstern im Plasma an, während die von freiem Carnitin abfielen. Gleichzeitig korrelierten die Blutspiegel von β -Hydroxybutyrat positiv und die von freien Fettsäuren negativ mit denen von Gesamtcarnitin. Dies weist darauf hin, daß die Kapazität der Leber zur Fettsäureoxidation und Ketogenese vom Carnitin-Plasmaspiegel und damit von der Carnitinzufuhr abhängt. Durch Zusatz von L-Carnitin zur parenteralen Ernährung von Frühgeborenen ließen sich normale Carnitin-Blutspiegel aufrecht erhalten. Gleichzeitig zeigten Carnitin-supplementierte Frühgeborene unter 34 Schwangerschaftswochen nach Fettinfusion einen niedrigeren Quotienten freie Fettsäuren/ β -Hydroxybutyrat und einen stärkeren Anstieg der Carnitinstern als nicht supplementierte Frühgeborene gleichen Gestationsalters. Dies bedeutet eine Verbesserung des Fettsäureabbaus durch Zusatz von L-Carnitin zur parenteralen Ernährung. Die Ergebnisse weisen darauf hin, daß Carnitin als essentieller Nahrungsbestandteil für Frühgeborene anzusehen ist.

9. Literatur

- 1 Strube I, Justus von Liebig. (B.C.Teubner Verlagsges., 1975)
- 2 Annalen der Chemie und Pharmacie, Heidelberg 1847.
- 3 Gulewitsch VS, Krimberg R: Zur Kenntnis der Extraktivstoffe der Muskeln. II. Mitteilung über das Carnitin. Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 45: 326-330 (1905).
- 4 Tomita M, Sendju Y: Über die Oxyaminverbindungen, welche die Biuretreaktion zeigen. III. Spaltung der γ -Amino- β -oxybuttersäure in die optisch-aktiven Komponenten. Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 169: 263-270 (1927)
- 5 Carter HE, Bhattacharyya PK, Weidman KR, Fraenkel G: Chemical studies on vitamin B₁ isolation and characterization as carnitine. Archs Biochem. Biophys. 36: 405-416
- 6 Fritz IB: Action of carnitine on long chain fatty acid oxidation by liver. Am. J. Physiol. 197: 297-304 (1959).
- 7 Fritz IB, Kaplan E, Yue KTN: Specificity of carnitine action on fatty acid oxidation by heart muscle. Am. J. Physiol. 202: 117-121 (1962).
- 8 Bremer J: Carnitine in intermediary metabolism. The metabolism of fatty acid esters of carnitine by mitochondria. J. Biol. Chem. 237: 3628-3632 (1962).
- 9 Fritz IB, Yue KTN: Long-chain carnitine acyltransferase and the role of acylcarnitine derivatives in the catalytic increase of fatty acid oxidation induced by carnitine. J. Lipid Res. 4: 279-288 (1963).
- 10 Hoppel CL, Tomec RJ: Carnitine palmitoyl-transferase. Location of two enzymatic activities in rat liver mitochondria. J. biol. Chem. 247: 832-841 (1972).
- 11 Kopec B, Fritz IB: Properties of a purified carnitine palmitoyltransferase and evidence of other carnitine acyltransferases. Can. J. Biochem. 49: 941-948 (1971).
- 12 Kopec B, Fritz IB: Comparison of properties of carnitine palmitoyltransferase I with those of carnitine palmitoyltransferase II, and preparation of antibodies to carnitine palmitoyltransferases. J. biol. Chem. 248: 4069-4074 (1973).
- 13 West DW, Chase JFA, Tubbs PK: The separation and properties of two forms of carnitine palmitoyltransferase from ox liver mitochondria. Biochem. biophys. Res. Commun. 42: 912-918 (1971).
- 14 Pande SV: A mitochondrial carnitine acylcarnitine translocase system. Proc. nat. Acad. Sci. USA 72: 883-887 (1975).
- 15 Brass EP, Hoppel CL: Effect of carnitine on mitochondrial oxidation of palmitoyl-carnitine. Biochem. J. 188: 451-458 (1980).
- 16 Fritz IB, Schultz SK, Srere PA: Properties of partially purified carnitine acetyltransferase. J. biol. Chem. 238: 2509-2517 (1963).

- 17 Oram JE, Wenger JL, Neely JR: Regulation of long chain fatty acid activation in heart muscle. *J. biol. Chem.* 256: 73-78 (1975).
- 18 Oram JF, Bennetch SL, Neely JR: Regulation of fatty acid utilization in isolated perfused rat hearts. *J. biol. Chem.* 248: 5299-5309 (1973).
- 19 Hochachka PW, Neely JR, Driedzie WR: Integration of lipid utilization with Krebs cycle activity in muscle. *Fed. Proc.* 36: 2009-2014 (1977).
- 20 Saggerson ED, Carpenter CA: Carnitine palmitoyltransferase and carnitine octanoyl-transferase activities in liver, kidney cortex, adipocyte, lactating mammary gland, skeletal muscle and heart. *FEBS Letters* 129: 229-232 (1981).
- 21 Markwell MAK, McGroarty EJ, Bieber LL, Tolbert NE: The subcellular distribution of carnitine acyltransferases in mammalian liver and kidney: a new peroxisomal enzyme. *J. biol. Chem.* 248: 3426-3432 (1973).
- 22 Bieber LL, Emaus R, Valkner K, Farrel S: Possible functions of short-chain and medium-chain carnitine acyltransferases. *Fed. Proc.* 41: 2858-2862 (1982).
- 23 Lazarow PB, DeDuve C: A fatty acyl-CoA oxidizing system in rat liver peroxisomes: enhancement by clofibrate, a hypolipidemic drug. *Proc. nat. Acad. Sci. USA* 73: 2043-2046 (1976).
- 24 Bieber LL, Choi YR: Isolation and identification of aliphatic short-chain acyl-carnitines from beef heart: possible role for carnitine in branched-chain amino acid metabolism. *Proc. nat. Acad. Sci. USA* 74: 2795-2798 (1977).
- 25 Solberg HE, Bremer J: Formation of branched-chain acylcarnitines in mitochondria. *Biochem. biophys. Acta* 222: 372-380 (1970).
- 26 May ME, Aftring RP, Buse MG: Mechanism of the stimulation of branched chain oxoacid oxidation in liver by carnitine. *J. biol. Chem.* 255: 8394-8397 (1980).
- 27 McGarry JD, Meier JM, Foster DW: The effects of starvation and refeeding on carbohydrate and lipid metabolism in vivo and in the perfused rat liver. *J. biol. Chem.* 248: 270-278 (1973).
- 28 Amatruda JM, Lockwood DH, Margolis S, Kiesow LA: ¹⁴C-Palmitate uptake in isolated rat liver mitochondria: effects of fasting, diabetes mellitus, and inhibitors of carnitine acyltransferase. *J. Lipid Res.* 19: 668-694 (1978).
- 29 Angelini A, Fredro L, Battistella P, Bresolin N, Pierobon-Bormioli S, Armani M, Vergani L: Carnitine palmitoyltransferase deficiency: Clinical variability, carrier detection, and autosomal-recessive inheritance. *Neurology* 31: 883-886 (1981).
- 30 McGarry JD, Wright PH, Foster DW: Hormonal control of ketogenesis. *J. clin. Invest.* 55: 1201-1209 (1975).
- 31 Nosadini R, Ursini F, Giengo A, Gregolin C: Perfused liver carnitine palmitoyl-transferase activity and ketogenesis in Streptozotocin treated and genetic hyperinsulinemic rats. Effect of glucagon. *Hormone metabol. Res.* 11: 661-664 (1979).
- 32 McGarry JD, Foster DW: Importance of experimental conditions in evaluation the malonyl-CoA sensitivity of liver carnitine acyltransferase. *Biochem. J.* 200: 217-223 (1981).
- 33 Saggerson ED, Carpenter CA: Malonyl-CoA inhibition of carnitine acyltransferase activities. Effects of thiol-group reagents. *FEBS Letters* 137: 124-128 (1982).
- 34 McGarry JD, Foster DW: In support of the roles of malonyl-CoA and carnitine acyltransferase I in the regulation of hepatic fatty acid oxidation and ketogenesis. *J. biol. Chem.* 254: 8163-8168 (1979).
- 35 Saggerson ED, Carpenter CA: Regulation of hepatic carnitine palmitoyltransferase activity during the foetal-neonatal transition. *FEBS Letters* 150: 177-180 (1982).

- 36 McGarry JD, Valdes CR, Foster DW: Role of carnitine in hepatic ketogenesis. *Proc. nat. Acad. Sci. USA* 72: 4385-4388 (1975).
- 37 Sandor A, Kerner J, Alknyi I: Role of carnitine in promoting the effect of antidiabetic biguanides on hepatic ketogenesis. *Biochem. Pharmacol.* 28: 969-974 (1979).
- 38 Stearns SB, Benzo CA: Carnitine content of liver from genetically diabetic and control mice. *Biochem. Med.* 25: 114-119 (1981).
- 39 Brass EP, Hoppel CL: Carnitine metabolism in the fasting rat. *J. biol. Chem.* 253: 2688-2693 (1978).
- 40 Zammit VA: Regulation of hepatic fatty acid metabolism. *Biochem. J.* 198: 75-83 (1981).
- 41 Snoswell AM, Henderson GD: Carnitine and metabolism in ruminant animals. In: McGarry and Frenkel *Carnitine biosynthesis, metabolism and functions*, pp 191-205 (Academic Press, New York 1980).
- 42 McGarry JD, Foster DW: Systemic carnitine deficiency. *New Eng. J. Med.* 303: 1413-1415 (1980).
- 43 Triscari J, Greenwood MRC, Sullivan AC: Oxidation and ketogenesis in hepatocytes of lean and obese Zucker rats. *Metabolism* 31: 223-228 (1982).
- 44 Yeh YY: Antiketonic and antiketogenic actions of carnitine in vivo and in vitro in rats. *J. Nutr.* 111: 831-840 (1981).
- 45 Hoppel CH, Genuth SM: Carnitine metabolism in normal weight and obese human subjects during fasting. *Am. J. Physiol.* 238: E409-415 (1980).
- 46 Seccombe DW, Hahn P, Novak M: The effect of diet and development on blood levels of free and esterified carnitine in the rat. *Biochem. biophys. Acta* 528: 483-489 (1978).
- 47 Parvin R, Pande SV: Enhancement of mitochondrial carnitine and carnitine acyl-carnitine translocasemediated transport of fatty acid into liver mitochondria under ketogenic conditions. *J. biol. Chem.* 254: 5423-5429 (1979).
- 48 Genuth SM, Hoppel CL: Plasma and urine carnitine in diabetic ketosis. *Diabetes* 28: 1083-1087 (1979).
- 49 Böhmer T, Norum KR, Bremer J: The relative amounts of long-chain acylcarnitine, acetylcarnitine, and free carnitine in organs of rats in different nutritional states and with alloxan diabetes. *Biochim. biophys. Acta* 125: 244-251 (1966).
- 50 Böhmer T: Tissue levels of activated fatty acids (acylcarnitines) and the regulation of fatty acid metabolism. *Biochim. biophys. Acta* 144: 259-270 (1967).
- 51 Linneweh W: γ -Butyrobetain, Crotonbetain und Carnitin im tierischen Stoffwechsel. *Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem.* 181: 42-53 (1929).
- 52 Lindstedt GT, Lindstedt S: On the biosynthesis and degradation of carnitine. *Biochem. biophys. Res. Commun.* 6: 319-323 (1961).
- 53 Wolf G, Berger CRA: Studies on the biosynthesis and turnover of carnitine. *Archs. Biochem. biophys.* 92: 360-365 (1961).
- 54 Tanphaichitr. V, Broquist HP: Site of carnitine biosynthesis in the rat. *J. Nutr.* 104: 1669-1673 (1974).
- 55 LaBadie J, Dunn WA, Aronson NN Jr: Hepatic synthesis of carnitine from protein-bound trimethyllysine. Lysosomal digestion of methyl-lysine-labelled asialo-fetuin. *Biochem. J.* 160: 85-95 (1976).
- 56 Rebouche CJ, Engel AG: Tissue distribution of carnitine biosynthetic enzyme in man. *Biochim. biophys. Acta* 630: 22-29 (1980).
- 57 Englard S: Hydroxylation of γ -butyrobetaine to carnitine in human and monkey tissues. *FEBS Letters* 102: 297-300 (1979).

- 58 Englund S, Carnicero HH: γ -butyrobetaine hydroxylation to carnitine in mammalian kidney. *Archs. Biochem. Biophys.* 190: 361-364 (1978).
- 59 Carter AL, Frenkel RA: The role of the kidney in the biosynthesis of carnitine in the rat. *J. biol. Chem.* 254: 10670-10674 (1979).
- 60 Rebouche CJ, Engel A: Significance of renal γ -butyrobetaine hydroxylase for carnitine biosynthesis in man. *J. biol. Chem.* 255: 8700-8705 (1980).
- 61 Pande SV, Parvin R: Clofibrate enhancement of mitochondrial carnitine transport system of rat liver and augmentation of liver carnitine and γ -butyrobetaine hydroxylase activity by thyroxine. *Biochim. biophys. Acta* 617: 363-370 (1980).
- 62 Rebouche CJ: Carnitine movement across muscle cell membranes. Studies in isolated rat muscle. *Biochim. biophys. Acta* 471: 145-155 (1977).
- 63 Willner JH, Ginsburg S, DiMauro S: Active transport of carnitine into skeletal muscle. *Neurology* 28: 721-724 (1978).
- 64 Vary TC, Neely JR: Characterization of carnitine transport in isolated perfused adult rat hearts. *Am. J. Physiol.* 242: H585-H592 (1982).
- 65 Cantrell CR, Borum PR: Identification of a cardiac carnitine binding protein. *J. biol. Chem.* 257: 10599-10604 (1982).
- 66 Christiansen RZ, Bremer J: Active transport of butyrobetaine and carnitine into isolated liver cells. *Biochim. biophys. Acta* 448: 562-577 (1976).
- 67 Brooks DE, McIntosh JEA: Turnover of carnitine by rat tissues. *Biochem. J.* 148: 439-445 (1975).
- 68 Theriault DG, Mehlmann MA: Metabolism of carnitine in cold-acclimated rats. *Can. J. Biochem.* 43: 1437-1443 (1965).
- 69 Khairallah EA, Wolf G: Carnitine decarboxylase. *J. biol. Chem.* 242: 32-39 (1967).
- 70 Mehlman MA, Theriault DG, Tobin BB: Carnitine ^{14}C metabolism in choline-deficient, alloxan-diabetic choline-deficient and insulin-treated rats. *Metabolism* 20: 100-107 (1971).
- 71 Strack E, Seim H: Die Bildung von γ -Butyrobetain aus exogenem L (-)-Carnitin in vivo bei Maus und Ratte Hoppe. *Seylers Z. physiol. Chem.* 360: 207-215 (1979).
- 72 Engel AG, Angelini C: Carnitine deficiency of human skeletal muscle with associated lipid storage myopathy: a new syndrome. *Science* 179: 899-903 (1973).
- 73 DiMauro S, DiMauro PMM: Muscle carnitine palmityltransferase deficiency and myoglobinuria. *Science* 182: 924-931 (1973).
- 74 Angelini C, Lucke S, Cantarutti F: Carnitine deficiency of skeletal muscle: report of a treated case. *Neurology* 26: 633-637 (1976).
- 75 Cornelio F, DiDonato S, Peluchetti D, Rimoldi M, Daniel S, Testa D, Mora M: Fatal cases of lipid storage myopathy with carnitine deficiency. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatr.* 40: 170-178 (1977).
- 76 Scholte HR, Jennekens FGI, Bouvy JBBJ: Carnitine palmitoyltransferase II deficiency with normal carnitine palmitoyltransferase I in skeletal muscle and leukocytes. *J. neurol. Sci.* 40: 39-51 (1979).
- 77 Karpati G, Carpenter S, Engel AG, Watters G, Allen J, Rothman S, Klassen G, Mamer OA: The syndrome of systemic carnitine deficiency. *Neurology* 25: 16-24 (1975).
- 78 Boudin G, Mikol J, Guillard A, Engel AG: Fatal systemic carnitine deficiency with lipid storage in skeletal muscle, heart, liver and kidney. *J. neurol. Sci.* 30: 313-325 (1976).

- 79 Chapoy PR, Angelini C, Brown WJ, Stiff JE, Shug AL, Cederbaum SD: Systemic carnitine deficiency - a treatable inherited lipid storage disease presenting as Reye's syndrome. *New Eng. J. Med.* 303: 1389-1394 (1980).
- 80 Carroll JE, Brooke MH, DeVivo DC, Shumate JB, Kraty R, Ringel SP, Hagberg JM: Carnitine deficiency: lack of response to carnitine therapy. *Neurology* 30: 618-626 (1980).
- 81 Engel AG, Rebouche CJ, Wilson DM, Glasgow AM, Ronshe CA, Cruse RP: Primary systemic carnitine deficiency. II. Renal handling of carnitine. *Neurology* 31: 819-825 (1981).
- 82 Petrykowski W, Ketelsen U-P, Schmidt-Sommerfeld E, Penn D, Sawicka E, Struck E, Lehnert W, Haap K, Strassburg H-M: Clinical, biochemical, ultrahistochemical and renal clearance studies in primary systemic carnitine deficiency under successful therapy. *Clin. Neuropathol.* 4 (2): 63-71 (1985).
- 83 Böhmer T, Bergrem H, Eiklid K: Carnitine deficiency induced during intermittent haemodialysis for renal failure. *Lancet* i: 126-128 (1978).
- 84 Gusmano R, Oleggiani R, Perfumo F: Plasma carnitine concentrations and dyslipidemia in children on maintenance hemodialysis. *J. Pediat.* 99: 429-432 (1981).
- 85 Bartel LL, Hussey JL, Shrager E: Perturbation of serum carnitine levels in human adults by chronic renal disease and dialysis therapy. *Am. J. clin. Nutr.* 34: 1314-1320 (1981).
- 86 Battistella PA, Angelini C, Vergani L: Carnitine deficiency induced during haemodialysis. *Lancet* i: 939 (1978).
- 87 Mingardi G, Bizzi A, Cini M, Licini R, Mecca G, Garattini S: Carnitine balance in hemodialyzed patients. *Clin. Nephrol.* 13: 269-270 (1980).
- 88 Penn D, Schmidt-Sommerfeld E: Carnitine and carnitine esters in plasma and adipose tissue of chronic uremic patients undergoing hemodialysis. *Metabolism* 32: 806-809 (1983).
- 89 Lacour B, Chanard J, Haguët M, Basile C, Assan R, di Giulio S, Ciancioni C, Lebikiri B, Drücke T, Funke-Brentano JL: Carnitine improves lipid anomalies in haemodialysis patients. *Lancet* ii: 763-765 (1980).
- 90 Chan MK, Varghese Z, Persaud JW, Moorhead TF: Carnitine in haemodialysis patients. *Lancet* ii: 1028-1029 (1980).
- 91 Khan-Siddiqui L, Bamji MS: Plasma carnitine levels in adult males in India: Effects of high cereal low fat diet, fat supplementation and nutrition status. *Am. J. clin. Nutr.* 33: 1259-1263 (1980).
- 92 Bohmer T, Rydning A, Solberg HE: Carnitine levels in human serum in health and disease. *Clinica chim. Acta* 57: 55-61 (1974).
- 93 Frohlich J, Hahn P, Cleator I: Changes in plasma carnitine levels after jejunoileal bypass. *Lancet* i: 1085 (1980).
- 94 Mikhail MM, Mansour MM: The relationship between serum carnitine levels and the nutritional status of patients with schistosomiasis. *Clinica chim. Acta* 71: 207-214 (1976).
- 95 Rudman D, Sewell CW, Ansley JD: Deficiency of carnitine in cachectic cirrhotic patients. *J. clin. Invest.* 60: 716-723 (1977).
- 96 Hahn P, Allardice DB, Frohlich J: Plasma carnitine levels during total parenteral nutrition of adult surgical patients. *Am. J. clin. Nutr.* 36: 569-572 (1982).
- 97 Wolf H, Stave U, Novak M, Monkus EF: Recent investigations on neonatal fat metabolism. *J. perinatal Med.* 2: 75-87 (1974).

- 98 Hahn P: Lipid metabolism and nutrition in the prenatal and postnatal period. In: Winick, Nutrition and development, pp. 99-134, John Wiley and Sons, New York (1972).
- 99 Novak M, Melichar V, Hahn P: Changes in the content and release of glycerol in subcutaneous adipose tissue of newborn infants. *Biol. Neonate* 8: 253-257 (1965).
- 100 Van Duyne CM, Havel RJ: Plasma unesterified fatty acids concentration in fetal and neonatal life. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 102: 599-602 (1959).
- 101 Novak M, Melichar V, Han P: Postnatal changes in the blood serum content of glycerol and fatty acids in human infants. *Biol. Neonate* 7: 179-184 (1964).
- 102 Kraus H, Schlenker S, Schwedesky D: Developmental changes of cerebral ketone body utilization in human infants. *Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem.* 355: 164-170 (1974).
- 103 Novak M, Monkus E, Wolf H, Stave U: The metabolism of subcutaneous adipose tissue in the immediate postnatal period of human newborns. 2. Developmental changes in the metabolism of ^{14}C -(U)-D-glucose and in enzyme activities: phosphofructokinase (PFK: EC 2.7.1.1 1) and β -hydroxyl-CoA-Dehydrogenase (HAD: EC 1.1.1.35). *Pediatr. Res.* 6: 211-218 (1972).
- 104 Hahn P, Novak M: Development of brown and white adipose tissue. *J. Lipid Res.* 16: 79-91 (1968).
- 105 Novak M, Melichar V, Hahn P: Changes in the reactivity of human adipose tissue in vitro to epinephrine and norepinephrine during postnatal development. *Biol. Neonate* 13: 175-180 (1968).
- 106 Khoo JC, Fong WW, Steinberg D: Activation of hormonesensitive lipase from human adipose tissue by cyclic AMP-dependent protein kinase. *Biochem. biophys. Res. Commun.* 49: 407-413 (1972).
- 107 Burns TW, Langley DE: Lipolysis by human adipose tissue: the role of 3', 5'-adenosine monophosphate and adrenergic receptor sites. *J. Lab. clin. Med.* 75: 983 (1970).
- 108 Burns TW, Langley PE, Robinson GA: Studies on the role cyclic of AMP in human lipolysis. *Adv. Cyclic Nucleotide Res.* 1: 63 (1972).
- 109 Ho RJ, England R, Meng HC: Effect of glucose on lipolysis and energy metabolism in fat cells. *Life Sci.* 9: 137-141 (1970).
- 110 Novak M, Penn D, Monkus E: Regulation of lipolysis in human neonatal adipose tissue. Effects of alteration in carbohydrate metabolism. *Biol. Neonate* 22: 451-467 (1973).
- 111 Novak M, Monkus E, Pardo V: Human neonatal subcutaneous adipose tissue. Function and ultrastructure. *Biol. Neonate* 19: 306-321 (1971).
- 112 Novak M, Hahn P, Pardo V, Monkus E, Alzamora D: The effect of carnitine on respiration of mitochondria obtained from newborn and adult human subcutaneous white adipose tissue. *Int. J. Biochem.* 5: 223-234 (1974).
- 113 Drahota Z, Honova E, Hahn P: The effect of ATP and carnitine on the endogenous respiration of mitochondria from brown adipose tissue. *Experimentia* 24/5: 431-2 (1968).
- 114 Smith RE, Horwitz BA: Brown fat and thermogenesis. *Physiol. Ref.* 49: 330-425 (1969).
- 115 Hahn P, Skala J, Davies P: Carnitine enhances the effect of norepinephrine on oxygen consumption in rats and mice. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 49: 853-855 (1971).
- 116 Hahn P, Skala J: The role of carnitine in brown adipose tissue of suckling rats. *Compar. Biochem. Physiol.* 51B: 507-515 (1975).

- 117 Marquis NR, Fritz IB: Enzymological determination of free carnitine concentrations in rat tissues. *J. Lipid Res.* 5: 184-187 (1964).
- 118 Cederblad G, Lindstedt S: A method for the determination of carnitine in the picomole range. *Clinica Chim. Acta* 37: 235-243 (1972).
- 119 McGarry JD, Foster DW: An improved and simplified radioisotopic assay for the determination of free and esterified carnitine. *J. Lipid Res.* 17: 277-281 (1976).
- 120 Christiansen RZ, Bremer J: Acetylation of tris (hydroxymethyl) aminomethane (Tris) and Tris derivatives by carnitine acetyltransferase. *FEBS Letters* 86: 99-102 (1978).
- 121 Persson B: Determination of plasma acetoacetate and D- β -hydroxy-butyrate in newborn infants by an enzymatic fluorimetric method. *Scand. J. clin. Invest.* 25: 9-18 (1969).
- 122 Hahn P, Skala JP, Seccombe DW, Frohlich J, Penn-Walker D, Novak M, Hynie I, Towell ME: Carnitine content of blood and amniotic fluid. *Pediatr. Res.* 11: 878-880 (1977).
- 123 Scholte HR, Stinis JT, Jennekens FGI: Low carnitine levels in serum of pregnant women. *New Eng. J. Med.* 299: 1079-1080 (1978).
- 124 Borum PR: Regulation of the carnitine concentration in plasma. In: Frenkel and McGarry, Carnitine biosynthesis, metabolism, and functions, (Academic Press, New York 1980), pp. 115-126
- 125 Carter AL, Stratman FW: Sex steroid regulation of urinary excretion of carnitine in rats. *J. Steroid Biochem.* 17: 211-215 (1982).
- 126 Gluck L, Kulovich M, Borer RC, Brenner PH, Anderson G, Spellacy W: Diagnosis of the respiratory distress syndrome by amniocentesis. *Am. J. Obstet. Gynec.* 109: 440-445 (1971).
- 127 Verhoeven GJ, Merkus HMWM: Procedure for the determination of the lecithin-sphingomyelin (L/S) ratio in amniotic fluid with a new detection reagent. *Clinica chim. Acta* 53: 229-232 (1974).
- 128 Novak M, Wieser PB, Buch M, Hahn P: Acetylcarnitine and free carnitine in body fluids before and after birth. *Pediatr. Res.* 13: 10-15 (1979).
- 129 Persson B: Assessment of metabolic control in diabetic pregnancy. In: Size at birth,
- 130 Seeds AE, Leung LS, Tabor MW, Russell PT: Changes in amniotic fluid glucose, β -hydroxy-butyrate, glycerol and lactate concentration in diabetic pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynec.* 135: 887-895 (1979).
- 131 Singh MM: Carbohydrate metabolism in pre-eclampsia. *Br. J. Obstet. Gynaec.* 83: 124-131 (1976).
- 132 Paterson P, Sheath J, Taft P, Wood C: Maternal and foetal ketone concentrations in plasma and urine. *Lancet* i: 862-865 (1967).
- 133 Saunders P, Rhodes P: The origin and circulation of the amniotic fluid. In: Fairweather and Eskes, Amniotic fluid, research and clinical application, pp. 4-18 (Excerpta Medica, Amsterdam 1973).
- 134 Schneider H, Challier J-C, Dancis J: Transfer and metabolism of Glucose and Lactate in the human placenta studied by a perfusion system in vitro. *Placenta (suppl.)* 2: 129-138 (1981).
- 135 Meschia G, Battaglia FC, Hay WW, Sparks JW: Utilization of substrates by the ovine placenta in vivo. *Fed. Proc.* 39: 245-249 (1980).
- 136 Simmons MA, Burd LJ, Lemons JA, Jones MD, Schreiner RL, Meschia G, Battaglia FC: Placental utilization and conversion of glucose in vivo. *Pediatr. Res.* 9: 279 (1975).

- 137 Dancis J, Jansen V, Kayden HJ, Schneider H, Levitz M: Transfer across the perfused human placenta. II. Free fatty acids. *Pediat. Res.* 7: 192-197 (1973).
- 138 Schneider H, Möhlen K-H, Dancis J: Transfer of amino acids across the in vitro perfused human placenta. *Pediat. Res.* 13: 236-240 (1979).
- 139 Brodie BB, Axelbrod J, Soberman R, Levy BB: The estimation of antipyrine in biological materials. *J. biol. Chem.* 179: 25-29 (1949).
- 140 Tsai AC, Romsos DR, Leveille GA: Significance of dietary carnitine for growth and carnitine turnover in rats. *J. Nutr.* 104: 782-792 (1974).
- 141 Novak M, Melichar V: Technique for sampling of human adipose tissue. *Physiol. Bohemoslov.* 12: 84-85 (1963).
- 142 Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ: Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. biol. Chem.* 193: 265-275 (1951).
- 143 Robles-Valdes C, McGarry JD, Foster DW: Maternal-fetal carnitine relationships and neonatal ketosis in the rat. *J. biol. Chem.* 251: 6007-6012 (1976).
- 144 Hahn P, Kirby LT: The effects of catecholamines, glucagon and diet on enzyme activities in brown fat and liver of the rat. *Can. J. Biochem.* 32: 739-743 (1974).
- 145 Bieber L, Markwell MAK, Blair M, Helmuth TA: Studies on the development of carnitine palmitoyl-transferase and fatty acid oxidation in liver mitochondria of neonatal pigs. *Biochim. biophys. Acta* 326: 145-154 (1973).
- 146 Augenfeld J, Fritz IB: Carnitine palmitoyl-transferase activity and fatty acid oxidation by livers from fetal and neonatal rats. *Can. J. Biochem.* 48: 288-294 (1970).
- 147 Kreutz FH: Enzymatische Glycerinbestimmung. *Klin. Wschr.* 40: 362-363 (1962).
- 148 Shapiro B, Chowder I, Rose G: Fatty acid uptake and esterification in adipose tissue. *Biochem. biophys. Acta* 23: 115-120 (1957).
- 149 Schneider H, Panigel M, Dancis J: Transfer across the perfused human placenta of antipyrine, sodium and leucine. *Am. J. Obstet. Gynec.* 114: 822 (1972).
- 150 Novak M, Penn-Walker D, Hahn P, Monkus E: Effect of carnitine on lipolysis in subcutaneous adipose tissue of newborns. *Biol. Neonate* 25: 85 (1975).
- 151 Harper RD, Saggerson ED: Factors affecting fatty acid oxidation in fat cells isolated from rat white adipose tissue. *J. Lipid Res.* 17: 516-526 (1976).
- 152 Sandor A, Pecsuvac K, Kerner J, Alkonyi I: On carnitine content of the human breast milk. *Pediat. Res.* 16: 89-91 (1982).
- 153 Borum PR, York CM, Broquist HP: Carnitine content of liquid formulas and special diets. *Am. J. clin. Nutr.* 32: 2272-2276 (1979).
- 154 Warshaw JB, Curry E: Comparison of serum carnitine and ketone body concentrations in breast- and in formula-fed newborns. *J. Pediat.* 97: 122-125 (1980).
- 155 Novak M: Pers. Mitteilung.
- 156 Schiff D, Chan G, Seccombe D, Hahn P: Plasma carnitine levels during intravenous feeding of the neonate. *J. Pediat.* 95: 1043-1046 (1976).
- 157 Novak M, Monkus EF, Chung D, Buch M: Carnitine in the perinatal metabolism of lipids. I. Relationship between maternal and fetal plasma levels of carnitine and acylcarnitines. *J. Pediat.* 67: 95-100 (1981).
- 158 Tanphaichitr V, Lerdvuthisophon N: Urinary carnitine excretion in surgical patients in total parenteral nutrition. *J. parent. ent. Nutr.* 5: 505-509 (1981).
- 159 Cederblad G, Lindstedt S: Metabolism of labeled carnitine in the rat. *Archs. Biochem. Biophys.* 175: 173-180 (1976).
- 160 Rebouche CJ: Comparative aspects of carnitine biosynthesis in microorganism and mammals with attention to carnitine biosynthesis in man. In: Frenkel and McGarry, Carnitine biosynthesis, metabolism and functions, pp. 57-67, (Academic Press, New York 1980).

- 161 Hahn P: The development of carnitine synthesis from γ -butyrobetaine in the rat. *Life Sci.* 29: 1057-1060 (1981).
- 162 Novak M: Colorimetric ultramicromethod for the determination of free fatty acids. *J. Lipid Res.* 6: 431-433 (1965).
- 163 Wolf H, Melichar V: Die Elimination und der Umsatz von Triglyceriden bei reifen Neugeborenen und bei Frühgeborenen. In: Joppich und Wolf, Stoffwechsel des Neugeborenen - Metabolism of the Newborn, S. 203-230, (Hippokrates-Verlag, Stuttgart 1970).
- 164 Olegard R, Gustafson E, Kjellmer I, Victorin L: Nutrition in low-birth-weight infants. III. Lipolysis and free fatty acid elimination after intravenous administration of fat emulsion. *Acta paediat. scand.* 64: 745-751 (1975).
- 165 Rubecz I, Mestyaň J, Horváth M, Schultz K: The elimination of free fatty acids, free glycerol and triglycerides from the plasma of low-birth-weight infants receiving intravenous fat emulsion and glucose. *Acta paediat. Acad. Scient. Hung.* 17: 65-71 (1976).
- 166 Andrew G, Chan G, Schiff D: Lipid metabolism in the neonate. I. The effect of Intralipid infusion on plasma triglyceride and free fatty acid concentrations in the neonate. *J. Pediat.* 88: 273-278 (1976).
- 167 Dhanireddi R, Hamosh M, Sivasubramanian KN, Chowdhry P, Scanlon JW, Hamosh P: Postheparin lipolytic activity and Intralipid clearance in very low-birth-weight infants. *J. Pediat.* 98: 617-622 (1981).
- 168 Brass EP, Hoppel CL: Carnitine metabolism in the fasting rat. *J. biol. Chem.* 253: 2688-2693 (1978).
- 169 Mayes PA: Studies on the major pathways of hepatic lipid metabolism using the perfused liver. In: Jeanrenaud and Hepp, Adipose tissue-regulation and metabolic functions, pp. 186-195, (Georg Thieme, Stuttgart 1970).
- 170 Slonim AE, Borum PR, Tanaka K, Stanley CA, Kasselberg AG, Greene HL, Burr IM: Dietarydependent carnitine deficiency as a cause of nonketotic hypoglycemia in an infant. *J. Pediat.* 99: 551-555 (1981).
- 171 Broekhuysen J, Baudine A, Deltour G: Effect of carnitine on acidosis and ketosis induced by lipid perfusions in dogs during starvation. *Biochim. biophys. Acta* 106: 207-210 (1965).
- 172 Sölling HD, Appels A: Effects of L-carnitine on utilization of ketone bodies and glucose in eviscerated, nephrectomized rats. *Biochim. biophys. Acta* 158: 162-164 (1968).
- 173 Gravina E, Gravina-Sanvitale G: Effect of carnitine on blood acetoacetate in fasting children. *Clinica chim. Acta* 23: 376-377 (1969).
- 174 Yeh YY: Antiketogenic and antiketogenic actions of carnitine in vivo and in vitro in rats. *J. Nutr.* 111: 831-840 (1981).
- 175 Brass EP, Hoppel CL: Relationship between acidsoluble carnitine and coenzyme A pools in vivo. *Biochem. J.* 190: 495-504 (1980).
- 176 Hahn P, Secombe DW, Towell ME: The perinatal role of carnitine. *Physiol. and Biochem. Basis for Perinatal Medicine. S.Z. Levine Conf. 1st Intl. Meeting, Paris*, pp. 187-198 (1979).
- 177 Hahn P, Secombe D, Towell ME: Perinatal changes in plasma carnitine levels in 4 species of mammals. *Experientia* 36: 1341 (1980).
- 178 Karp W, Sprecher H, Robertson A: Carnitine palmitoyltransferase activity in the human placenta. *Biol. Neonate* 18: 341-347 (1971).

- 179 Hahn P, Skala J: Carnitine transferases in human fetal tissues. *Biol. Neonate* 22: 9-15 (1973).
- 180 Carpentier YA, Nordenström J, Askanazi J, Elwyn DE, Gump FE, Kinney JM: Relationship between rates of clearance and oxidation of ^{14}C -Intralipid in surgical patients. *Surg. Forum* 30: 72-74 (1979).
- 181 Caldwell MD, Jonsson HT, Othersen HB: Essential fatty acid deficiency in an infant receiving prolonged parenteral alimentation. *J. Pediat.* 81: 894-898 (1972).
- 182 Paulsrud JR, Pensler L, Whitten CF, Stewart S, Holman RT: Essential fatty acid deficiency in infants induced by fat-free intravenous feeding. *Am. J. clin. Nutr.* 25: 897-904 (1972).
- 183 Friedman Z, Marks KH, Leisels MJ, Thorson R, Naeye R: Effect of parenteral fat emulsion on the pulmonary and reticuloendothelial systems in the newborn infant. *Pediat.* 61: 694-698 (1978).
- 184 Levene MI, Wigglesworth JS, Desai R: Pulmonary fat accumulation after Intralipid infusion in the preterm infant. *Lancet* ii: 815-819 (1980).
- 185 Dahms BB, Halpin TC: Pulmonary arterial lipid deposit in newborn infants receiving intravenous lipid infusion. *J. Pediat.* 97: 800-805 (1980).
- 186 Bagen-Lockner C, Hahn P, Wittmann B: Plasma carnitine in pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynec.* 140: 412-414 (1981).
- 187 Henderson LM, Hulse JD, Henderson LL: Purification of the enzymes involved in the conversion of trimethyllysine to trimethylaminobutyrate. In: Fraenkel and McGarry, Carnitine biosynthesis, metabolism and functions, pp. 35-43, (Academic Press, New York 1980).

Teile der vorliegenden Arbeit wurden bereits veröffentlicht in:

- Schmidt-Sommerfeld E, Penn D, Wolf H: The influence of maternal fat metabolism on fetal carnitine levels. *Early Human Dev.* 5: 233-242 (1981).
- Schmidt-Sommerfeld E, Novak M, Penn D, Wieser PB, Hahn P: Carnitine and the development of newborn adipose tissue. *Pediat. Res.* 12: 660-664 (1978).
- Penn D, Schmidt-Sommerfeld E, Wolf H: Carnitine deficiency in premature infants receiving total parenteral nutrition. *Early Human Dev.* 4: 23-34 (1980).
- Schmidt-Sommerfeld E, Penn D, Wolf H: Carnitine blood concentrations and fat utilization in parenterally alimented premature newborn infants. *J. Pediat.* 100: 260-264 (1982).
- Schmidt-Sommerfeld E, Penn D, Wolf H: Carnitine deficiency in premature infants receiving total parenteral nutrition: Effect of L-carnitine supplementation. *J. Pediat.* 102: 931-935 (1983).
- Penn D, Ludwigs B, Schmidt-Sommerfeldt E, Pascu F: Effect of nutrition on tissue carnitine concentrations in infants of different gestational ages. *Biol. Neonate* 47: 130-135 (1985).
- Schmidt-Sommerfeld E, Penn D, Sodha RJ, Pröglér M, Novak M, Schneider H: Transfer and metabolism of carnitine and carnitine esters in the in vitro perfused human placenta. *Pediat. Res.*, im Druck 1985.

Danksagung

Folgenden Personen bin ich zu Dank verpflichtet:

- den Professoren *Peter Hahn, Milan Novak, Mildred Stahlman, Uwe Stave und Helmut Wolf*, die meine wissenschaftlichen Lehrer und Vorbilder sind und waren,
- Herrn *Priv.-Doz. Dr. H. Schneider* und Mitarbeitern für die Hilfe und Beratung bei der Durchführung der Experimente an der perfundierten Plazenta,
- Frau *Prof. R. Huch*, die mir die Arbeit im Perinatalphysiologischen Labor der Universitätsfrauenklinik in Zürich ermöglicht hat,
- den Kinderkrankenschwestern der Station Bessau des Zentrums für Kinderheilkunde und den Hebammen des Zentrums für Frauenheilkunde der JLU Gießen für ihre Unterstützung,
- Frau *M. Lützen* und Herrn *U. Sassmannshausen* für technische Hilfe,
- Herrn *Dr. H. Litmeyer* für die Lungenreifebestimmungen im Fruchtwasser,
- Frau *B. Ludwigs* für die Messungen eines Teiles der Carnitin-Gewebespiegel,
- Herrn *Prof. Dr. H. Wolf* und Herrn *Dr. A. Otten* für die Durchsicht des Manuskripts,
- Frau *W. Sommerer* für Schreibarbeiten.

Diese Arbeit wurde unterstützt von:

der Deutschen Forschungsgemeinschaft und
der Alexander-von-Humboldt-Stiftung

